

In der Weihnachtsbäckerei...

Bestimmung von Mykotoxinen
in Backzutaten

Das neue IRSpirit

macht Infrarot-Spektroskopie
so einfach wie nie

Hinter den Kulissen

Anwender über das CLAM-2000





APPLIKATION

- Bionik macht's möglich – UV-2600 und ISR-2600Plus in der Nanospitzen-Analyse 6
- Schnelle GC ohne Handbremse – Filterzeitkonstante und Aufnahme-frequenz verbessern Signal-Rausch-Verhältnis 10
- In der Weihnachtsbäckerei... Bestimmung von Mykotoxinen in Backzutaten mittels LC-MS 16
- Klein, aber oho! – Kleine Säulen beschleunigen USP-Methoden für Medikamente und sparen Lösemittel, Zeit und Geld 20
- Alles Pappe, oder was? – Unter-suchung von Lebensmittelverpack-ungen mit ATR-Spektroskopie 23

PRODUKTE

- »Raum ist in der kleinsten Hütte« IRSpirit macht die Infrarotspektros-kopie leichter als je zuvor 2
- Konformität leichtgemacht – TOC-Bestimmung im regulierten Bereich 4
- Optimales Handling analytischer Daten in regulierten Laboratorien – Gestiegene Anforderungen durch cGMP 12

AKTUELLES

- Klimaforschung im Ozean – Alternative Methode zur Bestim-mung von CO₂ im Meerwasser 8
- Hinter den Kulissen – Anwender über das CLAM-2000 15
- Zeitsparende Methode für die Analyse von Bier – Derivatisierung und Quantifizierung von Glyphosat und AMPA 25
- Neue Lösungen für komplexe Probleme – Globaler Innovations-gipfel – Weltweit führende For-schung trifft Spitzentechnologie 29

MÄRKTE

- Chemical, Petrochemical, Biofuel and Energy
- Clinical
- Environment
- Food, Beverages, Agriculture
- Pharmaceutical
- Plastics and Rubber
- Automotive

»Raum ist in der kleinsten Hütte«

IRSpirit macht die Infrarotspektroskopie leichter als je zuvor



Fourier Transform Infrared Spectrophotometer IRSpirit

raums der eines gehobenen FTIR-Modells: 200 x 140 x 100 mm (B x L x H). Dies macht die IRSpirit-Systeme kompatibel mit vielem Shimadzu- und ande-rem kommerziellen Zubehör und ist deshalb für viele Anwen-dungsbereiche einsetzbar.

Hohe Zuverlässigkeit durch eine Technologie aus Modellen höherer Klassen

Das optische System der IRSpirit-Serie ist mit einem hoch-leistungsfähigen Michelson-Interferometer ausgestattet, kom-biniert mit einer keramischen Lichtquelle. Effizienzmerkmale wie dynamische Justage und hohe Energie der Lichtquelle unter-stützen das optische System. Dank ihres DLATGS-Detektors mit Temperatursteuerungsfunk-tion [1] wird die IRSpirit-Reihe als beste ihrer Klasse bezeichnet mit einer Empfindlichkeit bis zu 30.000:1 (mit einem KBr-Fenster). Dieses System zeigt hohe Stabilität und Durchsatz, um zuverlässige Ergebnisse zu lie-fern.

Mit – frei nach Friedrich Schiller – geringstem Platzbedarf, gleichzeitig funktional und leicht bedienbar, ergänzt die neue IRSpirit-Serie die bekannte FTIR-Produktlinie von Shimadzu. Entwickelt für anspruchsvolle Aufgaben auf kleiner Fläche eröffnen die IRSpirit-Systeme neue Analyse-möglichkeiten, kombiniert mit der Stabilität der höher-klassigen Familienmitglieder. Die neue, spezialisierte Software IRPilot erleichtert wesentlich die Handhabung. So macht IRSpirit die Infrarotspektroskopie außeror-dentlich effizient und hilft An-wendern, Analyseverfahren zeit-sparend zu entwickeln.

Platzsparend und flexibel

In einem modernen Labor ist der Platzbedarf eines Analysystems stetiges Thema. Daher wurde IRSpirit so klein wie möglich konzipiert: mit einer Stellfläche kleiner als ein DIN A3-Blatt.

Die IRSpirit-Serie lässt sich raumsparend horizontal wie vertikal ausgerichtet nutzen, auch in Abzügen oder Glove-Boxen. Dazu sind der Start-/Umschalt-knopf und der Feuchtigkeitsindi-kator in beiden Aufstellvarianten zugänglich und sichtbar.

Trotz der geringen Gerätegröße entspricht die Breite des Proben-

Hohe Flexibilität wird durch unterschiedliche Fenstermateri-



Abbildung 1: IRSpirit-Größe im Vergleich zu einem DIN A3 Papierblatt (graues Rechteck)



Abbildung 2: Beispiele für Hardware-Alternativen der IR Spirit-Serie: QATR-S (links), eine Erweiterung zur Einzelreflexion-ATR-Messung und DRS-8000A (rechts) für die diffuse Reflexionsspektroskopie (DRS).

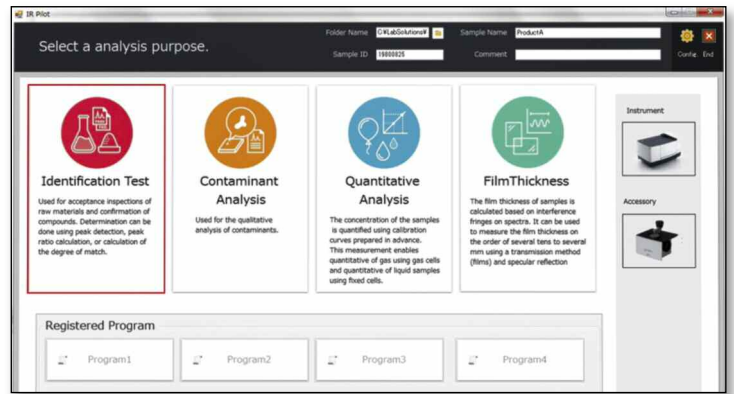


Abbildung 3: IRPilot-Diagramm und -arbeitsablauf

alien gewährleistet sowie durch verschiedene Detektorausführungen. [2] Obwohl die IR Spirit-Reihe klein und kompakt ist, werden die Geräte wie höherwertige Geräteversionen gesteuert. Statuskontrolle und Diagnosefunktion sind ebenfalls vorhanden. Die automatische Zubehörerkennung unterstützt den Anwender, die notwendigen Parameter für ein spezifisches Zubehör festzulegen.

LabSolutions IR: mehr als eine Software

Zusätzlich zur automatischen Zubehörerkennung ist die LabSolutions IR-Software in der Lage, alle verschiedenen Parametereinstellungen für Messung und Analyse zu steuern.

IRPilot, das Assistenzprogramm für Standardanalysen, erleichtert

die Arbeit und führt die Nutzer durch die gesamte Messung bis zu den Ergebnissen. Mit dem IRPilot reicht eine einfache und schnelle Auswahl des Zubehörs sowie der Probenform aus, um eine Analyse zu starten. Danach ist der IRPilot in der Lage, viele Proben mit nur einem Klick zu messen.

Mit seinen 23 integrierten Anwendungsprogrammen macht der IRPilot die FTIR-Probenanalyse einfach, sogar für weniger erfahrene Mitarbeiter.

LabSolutions IR hilft dabei, die spezifischen Anforderungen an ein Infrarotspektrum zu lösen. Ein Teil dieser Software ist beispielsweise dem „Identification Test Program“ und dem „Contaminant Analysis Program“ zugeordnet. Beide Anwendungen ermöglichen der IR Spirit-Serie, reine und kon-

Funktionales Geräte- und Nutzermanagement

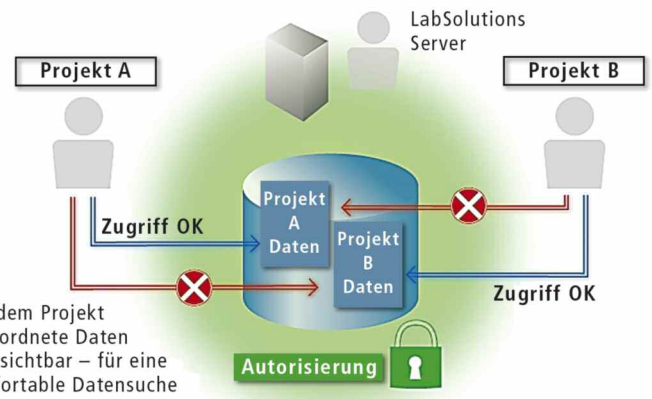


Abbildung 5: LabSolutions DB/CS-Datenbankmanagementsystem

taminierte Proben zu identifizieren. LabSolutions IR ist auch imstande, eine quantitative Analyse durchzuführen.

Die zusätzliche Makrofunktion hilft den Mitarbeitern, eine individuell angepasste Automatisierung für die Analyse zu erzeugen. Einige integrierte Funktionen wie spezifische Bibliotheken oder kinetische Untersuchungen bedienen weitere Anwenderwünsche. Die exklusive optionale Software EDXIR ermöglicht die EDX- und IR-Messungen zur Identifikation von Kontaminationen via Bibliothekssuche zusammen zu nutzen.

Die Übereinstimmung mit ER/ES-Vorschriften ist mit der Shimadzu LabSolutions DB- oder der CS-Plattform gegeben. Diese Werkzeuge bieten Projektmanagementfunktionen, die es ermöglicht, Geräte- und Nutzermanagement, Sicherheitsstrategie und Datenverarbeitung für ein Projekt über eine Projektbasis einzurichten, wo-

durch Datensuche und Managementaufgaben effizienter werden.

Zusammenfassung

Die IR Spirit-Systeme setzen einen neuen Standard bei kompakten IR-Spektrometern. Die geringe Größe und das leistungsstarke optische System machen sie zu einer idealen Lösung für viele verschiedene Anwendungen. Die IR Spirit-Geräte eignen sich zur Qualitätskontrolle, sogar in stark regulierten Bereichen, zum Beispiel der pharmazeutischen Industrie. Auch komplexe Probleme lassen sich lösen, wie die Identifikation fester, flüssiger und gasförmiger Substanzen. Die Einfachheit der Software und der Gerätehandhabung machen ein IR Spirit auch zu einer perfekten Stütze für Ausbildungszwecke.

Anmerkung

- [1] Verfügbar bei IR Spirit-T.
- [2] IR Spirit-T: DLATGS-Detektor mit Temperatur-Steuerefunktion; IR Spirit-L: LiTaO₃-Detektor.

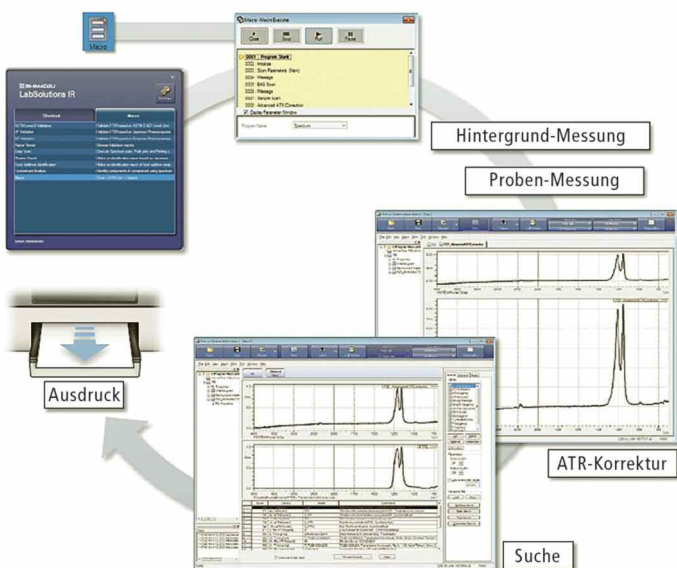


Abbildung 4: Überblick über die LabSolutions IR-Makroprogrammierung



Abbildung 1: LabSolutions Startbildschirm

Konformität leichtgemacht

TOC-Bestimmung im regulierten Bereich

Seit in den amerikanischen und europäischen Arzneibüchern die TOC-Bestimmung vorgeschrieben ist, um Reinstwasser zu prüfen (Wasser für Injektionszwecke, highly purified water), sind TOC-Messgeräte in der pharmazeutischen Industrie im Einsatz. Neben der Reinstwasserbestimmung, wird die TOC-Analytik auch in der Reinigungsvalidierung verwendet und um Kunststoffverpackungen und deren Werkstoffe zu kontrollieren. Dies hat zur Folge, dass viele TOC-Systeme in regulierten Laborbereichen genutzt werden und damit verschiedenen Regularien unterworfen sind. Dies gilt insbesondere für die Geräte-Software, die hier näher betrachtet wird.

GLP/GMP für den organisatorischen Ablauf

Die Gute Laborpraxis (GLP) befasst sich mit dem organisatorischen Ablauf und den Bedingun-

gen, unter denen Laborprüfungen geplant, durchgeführt und überwacht werden, sowie mit der Aufzeichnung und Berichterstattung der Prüfungen. Für eine Instrumenten-Software bedeutet dies, einen autorisierten Zugriff sicherzustellen und Daten, Parameteränderungen und Ereignisse vollständig zu dokumentieren.

FDA 21 CFR Part 11 zur elektronischen Aufzeichnung

Die Vorschrift zu elektronischen Aufzeichnungen und Unterschriften

(„electronic records and electronic signatures“) wurde von der amerikanischen Kontrollbehörde für Lebens- und Arzneimittel FDA (Food and drug administration) 1997 entwickelt, um den nötigen Papieraufwand drastisch zu reduzieren. Da digitale Informationen einfacher zu manipulieren sind, wurden in FDA 21 CFR Part 11 Voraussetzungen definiert, unter denen Anträge und Dokumentation digital eingereicht und elektronische Unterschriften anerkannt werden können. Hiermit wird sichergestellt, dass die elektronische Dokumentation genauso glaubwürdig und zuverlässig ist, wie die gedruckte.

Durch Kontrollmechanismen und Verfahrensanweisungen muss die Authentizität und, wenn nötig, auch die Datenintegrität gewährleistet werden. Die meisten Vorschriften des „Part 11“ behandeln Sicherheitsmaßnahmen gegen illegalen Systemzugriff, Benutzerverwaltung, Datensicherheit, Daten-

Date	User	Source	Item	From	To
08/03/17 14:33	System Administrator	0-10	Sample completed		
08/03/17 14:34	System Administrator	0-10	Measurement started		
08/03/17 14:33	System Administrator	0-10	Sample added		
08/03/17 14:33	System Administrator	0-10	Sample completed		
08/03/17 14:14	System Administrator	0-10	Measurement started		
08/03/17 14:14	System Administrator	0-10	Sample added		
08/03/17 13:59	System Administrator	0-10	Measurement started		
08/03/17 13:59	System Administrator	0-10	Sample completed		
08/03/17 13:43	System Administrator	0-10	Measurement started		
08/03/17 13:42	System Administrator	0-10	TN Audit	0.0	1.0
08/03/17 13:42	System Administrator	0-10	TN Audit	1.000	2.0
08/03/17 13:42	System Administrator	0-10	Sample added		
08/03/17 13:42	System Administrator	0-10	Sample Name	TN Std 10mg/L	10
08/03/17 13:42	System Administrator	0-10	Sample added		
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Sample added	TN Std 10mg/L	10
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Sample added		
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Replaceable sample in		
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Replaceable sample in		
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Zero		
08/03/17 13:41	System Administrator	0-10	Zero		

Abbildung 2: Audit Trail

archivierung und die elektronische Unterschrift selbst. Die zur Steuerung der TOC-L Serie genutzte Software TOC-Control L hilft diese Regularien zu erfüllen und dabei trotzdem benutzerfreundlich zu bleiben.

TOC-Control L Software bietet Analyse-Unterstützung und Messdatensicherheit

Schon während der Software-Installation wird entschieden, nach welchen Kriterien die Software arbeiten soll. Die gewählten Parameter können später nicht mehr verändert werden. Die TOC-Control L Software beinhaltet zahlreiche Funktionen zur Analyse-Unterstützung, aber auch zur Messdatensicherheit.

Benutzerverwaltung mit verschiedenen Ebenen

Die Nutzung der Software lässt sich durch Benutzer-Zugriffsrechte steuern. Die Software bietet vier vordefinierte Benutzerebenen, jeweils durch eigene Passwörter geschützt. Der Administrator kann die Zugriffsrechte jedes Nutzers individuell anpassen. Die TOC-Control L erlaubt es, den angemeldeten Benutzer während des laufenden Betriebs zu wechseln. Dies ist besonders wichtig für Laboratorien, die im Schichtbetrieb arbeiten. Die Benutzerverwaltung erfolgt in einem externen Programm, in dem auch die Parameter für die Passwörter festgelegt werden, wie Mindestlänge, Komplexität und Gültigkeitsdauer.

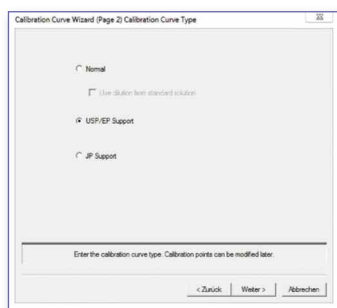


Abbildung 3: Vorlage EP/USP Kalibrierkurve

Audit Trail zeichnet Handlungen auf

Im „Audit Trail“ werden alle in der Software durchgeführten Handlungen automatisch doku-

	Type	Analysis	Sample Name	Origin	Result	Notes	Vial
1	Standard	NPOC	SST Calibration	SST_NPOC			1, 2
2	Unknown	NPOC	SST	SST_NPOC	NPOC:0.5195mg/	98.91% : USP/EP system suitability test: Pass	3
3							
4							
5							
6							

Abbildung 5: Durchgeführter Systemeignungstest mit automatischer Bewertung

mentiert (Abbildung 2). Dies erfolgt völlig im Hintergrund; bei Änderungen an bestehenden Parametern kann jedoch eine Kommentierung vorausgesetzt werden. Die Speicherung der Daten erfolgt in einer relationalen Datenbank. Durch gezielte Abfragen können bestimmte Operationen einfach nachgeschaut werden. Man kann die Daten entweder nach Zeiträumen, Benutzer oder nach Themen sortieren lassen, wie etwa Verwaltung, Messung oder Wartung. Wartungsarbeiten, die die Software nicht erkennen kann (zum Beispiel Katalysatorwechsel), lassen sich manuell eingeben.

Rohdatenverwaltung zur Messdatensicherheit

Besonders wichtig für den regulierten Bereich ist die Messdatensicherheit. Gemessene Daten dürfen nicht unerkannt verändert werden. In der TOC-Bestimmung erfolgt zuerst die Integration des Peaks, die nicht durch den Benutzer beeinflusst werden kann. Danach wird die ermittelte Fläche mittels einer Kalibrationskurve in den Konzentrationswert umgerechnet. Hier kann eine Nachberechnung mit einer anderen Kalibrationskurve erfolgen, falls dies nicht über die Administration verhindert wird.

Alle diese Daten werden automatisch abgespeichert, und ihre zugehörigen Dateien erhalten alle wichtigen Informationen: das verwendete Gerät, den Anwender, die verwendeten Methoden und Kalibrierkurven, die Messergebnisse (Flächen und Konzentrationen) und die Peak-Profile. Zur Datensicherung können diese Dateien direkt nach der Erzeugung in eine Datenbank exportiert werden. Eine Ausgabe in menschenlesbarer Form ist im .txt und .pdf Format möglich.

Funktionsübergreifend und zentral: LabSolutions Software

Für eine solide Datensicherheit und verbesserte Verwaltungseffizienz bietet Shimadzu die LabSolutions Software-Umgebung an. LabSolutions ist eine funktionsübergreifende Lösung für FDA 21 CFR Part 11 Konformität, die laborweit anwendbar ist. Mit LabSolutions wird die Gesamtheit der von verschiedenen Shimadzu-Systemen generierten Daten zentral verwaltet, signiert und in einer relationalen Datenbank archiviert. Diese enorme Menge an Daten kann zwecks einfacher Suche und Verwaltung in Projekten strukturiert werden.



Abbildung 4: Vorlage für den System-eignungstest

Die Möglichkeit Multi-Daten-Reports aus Analyseergebnissen verschiedener Geräte zu erstellen, vereinfacht die Berichterstattung an Unternehmensleitung und Auftraggeber. Die Unterstützung von „computerisierter Systemvalidierung“ (CSV) und vordefinierte Validierungsvorlagen, vereinfachen die Systemvalidierung und minimieren die Irrtumswahrscheinlichkeit.

Die LabSolutions Plattform kann als Lösung für kleinere Laboratorien auf einzelnen Computern (LabSolutions DB), oder als un-

ternehmensweites Client-Server-Netzwerk (LabSolutions CS) eingerichtet werden.

Unterstützung der TOC-Bestimmung nach EP 2.2.44

Die TOC-Control L Software vereinfacht Tests durchzuführen durch Vorlagen für die Erstellung von Kalibrierkurven (Abbildung 3) und Kontrollproben.

Der Systemeignungstest ist in einer speziellen Methodenvorlage vordefiniert (Abbildung 4). Nach der Vermessung der Kontrollprobe (Benzochinon) wird automatisch die Wiederfindung berechnet und mit den vorgegebenen Grenzen (85 - 115 %) verglichen und dokumentiert (Abbildung 5).

Zusammenfassung

Die TOC-Control L Software vereint alle Notwendigkeiten, um Daten sicher zu handhaben und unterstützt den komfortablen Umgang mit bestehenden Regularien in der pharmazeutischen Industrie.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:

- Whitepaper: „Compliance of Shimadzu Total Organic Carbon (TOC) analyzer with FDA 21 CFR Part 11 regulations on electronic records and electronic signatures – TOC-Control L Ver. 1 / LabSolutions DB/CS Ver. 6“



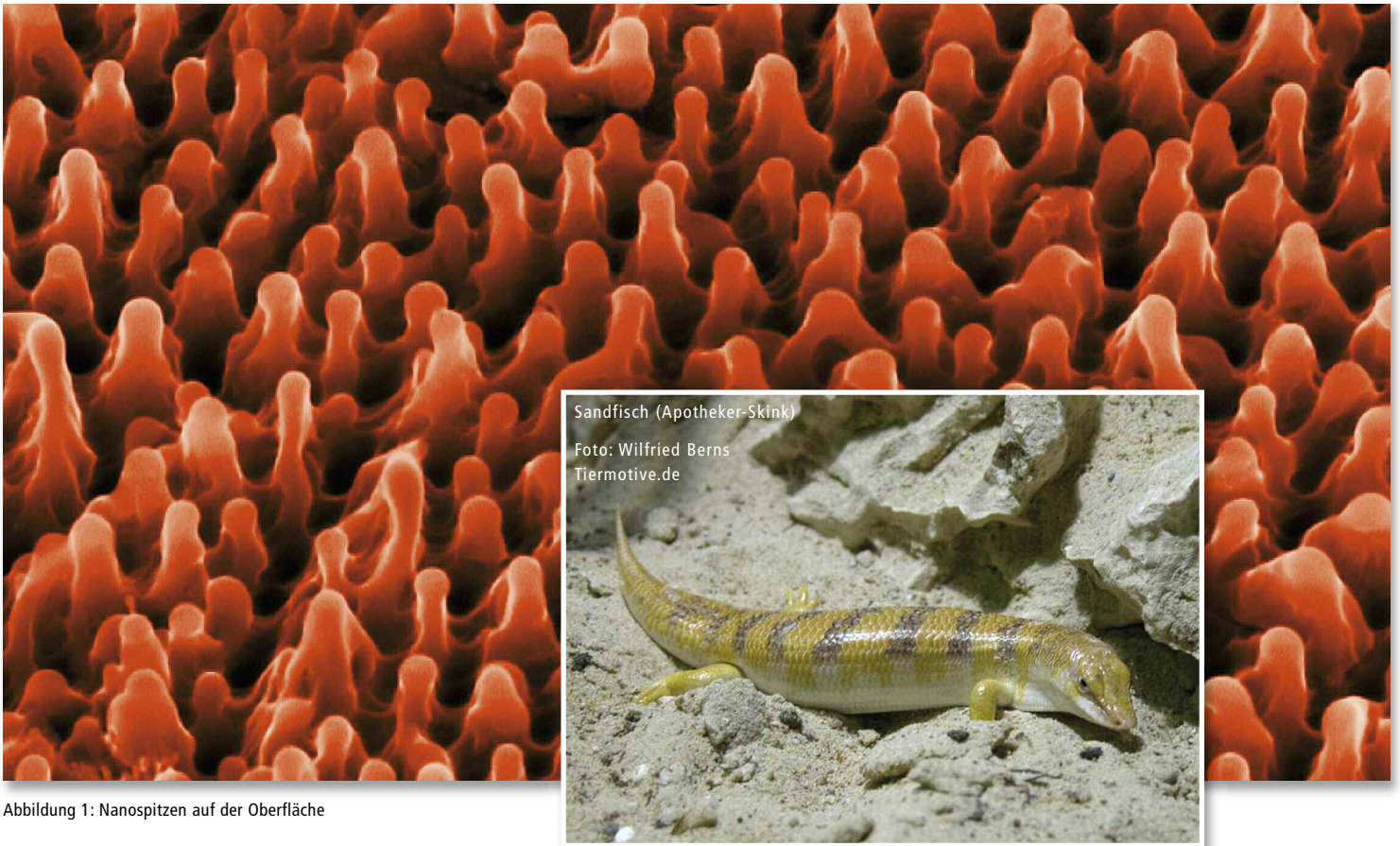


Abbildung 1: Nanospitzen auf der Oberfläche

Schwimmtechnik und Zahntechnik: Bionik macht's möglich

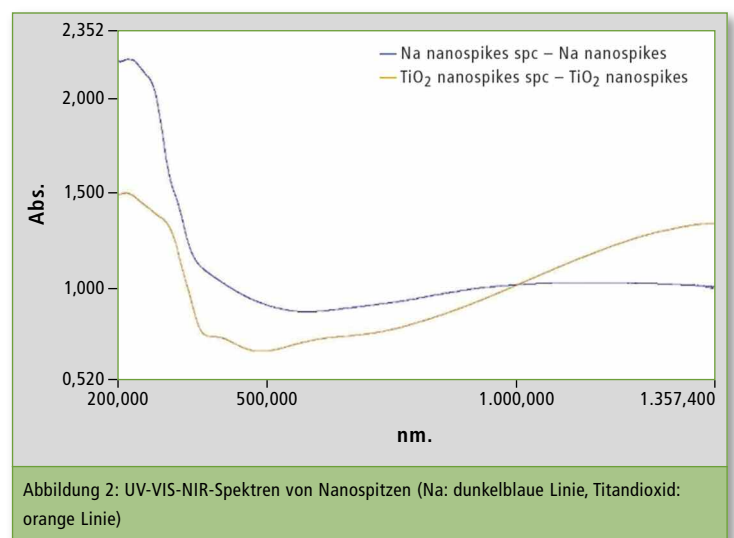
UV-2600 und ISR-2600Plus: Nanospitzen-Analyse von TiO₂ und Natrium an Oberflächen von Dentalmaterialien

Was haben ein Sandfisch und Farbe gemeinsam? Beide sind durch die Bionik verbunden, eine interdisziplinäre Wissenschaft, die biologische Techniken und Systeme aus der Natur übernimmt, um moderne Technologien zu entwickeln. Eine bekannte Nutzung ist der sogenannte Lotus-Effekt, bei dem nanoskopische Pflanzeigenschaften für Beschichtungen, Farben und Dachziegeln imitiert werden, um deren selbstreinigende Funktionen zu unterstützen.

Auf Titan basierende Weißmacher in Farben und Zahnimplantaten erscheinen weit weg von der Welt

des Sandfischs (Apothekerskink, *Scincus scincus*), eines kleinen Reptils, das durch Sand schwimmt wie ein Fisch durch Wasser. Aber Fortschritte in der Welt der Bionik führen dazu, dass die Haut des Reptils und die Oberfläche von Dentalimplantaten eine Gemeinsamkeit haben: Nanospitzen (Nanospike).

Die Haut des Sandfischs hat spitze Nanostrukturen ausgebildet, die eine nahezu reibungsfreie Oberfläche erzeugen, wodurch nur ein winziger Teil der normalen Oberfläche des Tiers in Kontakt mit den harten Körnern des trockenen Sands kommt. [1] In der Welt der



Zahnimplantate bewirken die Nanospitzen fast genau das Gegenteil dieser Eigenschaft, indem sie eine sehr große Kontaktfläche für das Implantat ergeben, um einen Kontakt mit der weichen Gewebeoberfläche herzustellen.

Dieser Anwendungsbericht diskutiert die Analyse von Nanospitzen-Material aus TiO₂ für dentale Zwecke.

Ein neuer Ansatz: Nanostrukturen an der Oberfläche gebunden an oder mit TiO₂

TiO₂ ist seit Jahrzehnten eine bekannte Substanz für verschiedene Anwendungsfelder. Sehr typisch ist seine Verwendung als Weißmacher aufgrund der ausgezeichneten Reflexionseigenschaften.

Nanospitzen eröffnen zusätzliche Anwendungsfelder für TiO₂ und sind ein Ansatz zur Herstellung dünner aktiver TiO₂-Oberflächen, um die antibakteriellen Eigenschaften von TiO₂ innerhalb sehr kleiner Bereiche zu erhalten. Nanospitzen sorgen auch für eine stark reflektierende Oberfläche, die aus vielen Zehntausenden von winzigen Spitzen bestehen. Die Illustration auf Seite 6 stellt Titan-Nanospitzen in hoher Vergrößerung durch ein Rasterelektronenmikroskop (Scanning Electron Microscopy = SEM) dar (Abbildung 1). Die Spitzen verleihen der Oberfläche ein außerordentlich stark- und hell-weißes Erscheinungsbild.

Allerdings kann die ungewöhnliche, in der nanokristallinen Form vorliegende Oberflächenstruktur das Reflexionsvermögen verändern. Titandioxid zeigt auch Fluoreszenzeigenschaften. Für einen medizinischen Einsatz ist es gewöhnlich von Vorteil, so wenig Material wie möglich zu verwenden.

Ein neuer Ansatz besteht im Einsatz von Nanostrukturen auf der Oberfläche, gebunden an oder mit TiO₂. Die Nanospitzen-Beschaffenheit ist vergleichbar mit einem Feld von Nadeln, das im Prinzip einen idealen diffusen Reflektor ergibt. Daher ist zu erwarten, dass eine derartige Oberfläche ein höheres diffuses Reflexionsniveau

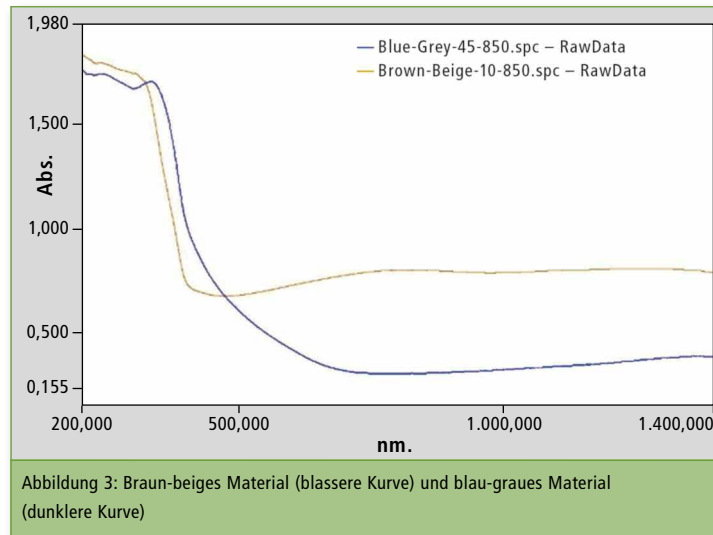


Abbildung 3: Braun-beiges Material (blassere Kurve) und blau-graues Material (dunklere Kurve)

erreicht als eine normale, nicht mit Spitzen versehene Oberfläche.

Anwendung

Verschiedene Proben wurden mit der UV-VIS-NIR-Spektroskopie im Reflexionsmodus gemessen [2, 3]. Es lagen Proben mit Na- und TiO₂-Nanospitzen vor, ein blau-grau und ein braun-beige glänzendes Material. Aufgrund der Materialeigenschaften wurde eine Integrationskugel eingesetzt, um so viel wie möglich von der diffusen Reflexion einzufangen. Diese Proben waren von geringer Größe, so dass ein Untergrund mit einem Weißstandard aus BaSO₄ (Bariumsulfat) hergestellt wurde, um Proben auf die Reflexionsöffnung der ISR-2600Plus Integrationskugel aufzubringen. Die Probe war groß genug, um sicherzustellen, dass der Lichtstrahl des Geräts ausschließlich auf die Probe gelangte.

Eine Probe wurde auf einem weißen Reflektor aufgebracht, so dass die Reflexionsverluste der Kugel minimiert wurden. Gemessen wurde von 220 bis 1.400 nm mit Hilfe der Integrationskugel, die mit zwei Detektoren ausgerüstet war. Dabei war die Probe auf dem diffusen Reflexionseingang platziert - bei einem Einfallswinkel von null Grad, um mögliche gespiegelte Reflexionsanteile der Messung auszublenden.

Zusammenfassung

Die Nanokristall-Kurven zeigen eine hohe Absorption (niedrige

Reflexion) bei kurzen Wellenlängen; wahrscheinlich wird die Kurve bei 200 nm durch das Reflexionsvermögen der inneren Kugelbeschichtung begrenzt, denn Bariumsulfat fällt im Wesentlichen in den Bereich zwischen 220 und 200 nm. Aber selbst in diesem Bereich zeigen die Ergebnisse, dass das Gerät noch innerhalb des Arbeitsbereichs lag, da die Daten linear bleiben. Sobald die Nachweisgrenze erreicht wird, würde die Kurve im Bereich unterhalb von 220 nm ein Rauschen aufweisen.

Die übrigen Kurvenanteile liegen gut im Photometer- und Streulichtbereich des Systems. Die Reflexionskurven verlaufen sehr deutlich und zeigen minimales Rauschen. Diese Kurven werden im diffusen Reflexionsmodus aufgenommen, so dass ein gespiegelter Reflexionsanteil der Probe ausgeblendet ist. (Die Probe wird unter null Grad Einfallswinkel bestrahlt und so platziert, dass ein gespiegelter Reflexionsanteil durch die Transmissionsöffnung ausgeblendet wird.)

Im Fall von Materialien, die nichts reflektieren außer bei sehr flachen Betrachtungswinkeln, ist diese Messung im Allgemeinen am genauesten, da der gespiegelte Anteil minimal ist. Falls die Probe etwas reflektiert, lässt sich eine zusätzliche Messung mit Hilfe der gerichteten Reflexionsöffnung durchführen, bei der die Probe unter acht Grad Einfallswinkel bestrahlt wird, was die Spiegelreflexion erlaubt, die zur Kugelwand zurück

reflektiert und so in die Messung eingeschlossen wird.

Bei Betrachtung dieser Ergebnisse liefert das Gerät eindeutig genaue Resultate für den gesamten Bereich von 200 - 1.400 nm. Die Ergebnisse werden alle unter Verwendung von Bariumsulfat als Referenzmaterial erhalten. Dies gilt als sehr guter neutraler Reflektor. Alle Integrationskugelmessungen müssen in Prozent des Referenzmodus angegeben werden, da es unmöglich ist, die diffuse Reflexionsfähigkeit als Absolutwert zu messen [2, 3]. Im Verlauf der Untergrunderfassung normalisiert das Gerät alle Reflexionswerte für Bariumsulfat auf 100 % (0 absolut), aber das Reflexionsvermögen des Referenzmaterials sollte in Betracht gezogen werden.

Literatur

- [1] The Sandfish of the Sahara – A Model for Friction and Wear Reduction, Ingo Rechenberg, Abdullah Regabi El Khayri, Technische Universität Berlin, Bionik und Evolutionstechnik, 2/2004.
- [2] Standards in Absorption Spectrometry, Burgess and Knowles (ISBN 0-412-22470-4).
- [3] Fundamentals of Molecular Spectroscopy, Banwell and McCash (ISBN 0-07-707976-0).



Klimaforschung im Ozean

Alternative Methode zur Bestimmung von Kohlenstoffdioxid im Meerwasser



Die Weltmeere dienen seit Urzeiten als Kohlenstoffdioxidsenken. Das CO₂ in der Luft wird durch kalkskelettbildende Lebewesen im Meer permanent gebunden. Ein Langzeitversuch mit Korallen zeigt die Eignung des DIC-Verfahrens (gelöster anorganischer Kohlenstoff) mittels TOC-Analysator als ein sicheres, exaktes und schnelles Alternativverfahren für die Erforschung von Meerwasser.

Eine der größten weltweiten Herausforderungen der Gegenwart ist die Eindämmung der anthropogenen globalen Erwärmung. Das auf dem Klimagipfel in Paris ratifizierte Abkommen legt unter anderem fest, die Erderwärmung auf unter 2 °C des vorindustriellen Niveaus zu begrenzen. Dadurch sollen die Auswirkungen der Klimaveränderung wie Wetterextreme, Gletscherschmelzen oder steigender Meeresspiegel erheblich reduziert werden.

Eine der Hauptursachen der Klimaveränderung ist vermutlich die

Emission von sogenannten Treibhausgasen. Kohlendioxid ist dabei das von den Industriestaaten meist emittierte Gas, es entsteht etwa bei der Verbrennung fossiler Brennstoffe. Zum Vergleich: In den 1960er Jahren lag der mittlere volumenbezogene Kohlenstoffdioxidgehalt der Luft bei ca. 280 ppm, heute liegt er bei über 380 ppm.

Korallen im Klimakreislauf

Zwei Drittel der Erdoberfläche sind mit Wasser bedeckt. Die Weltmeere fungieren seit Jahrmillionen als wichtige CO₂-Senken. Ein Teil des in der Atmosphäre enthaltenen Kohlenstoffdioxids wird im Meerwasser zunächst gelöst, bis es dort schließlich dissoziiert und sich chemisch im Kohlensäuregleichgewicht befindet. Bei dem in den Ozeanen vorherrschenden pH-Milieu (pH ca. 8,2) liegt es zu fast 100 % als Hydrogencarbonat vor. Ein Großteil dieser Kohlenstoffeinträge wird durch kalkskelettbildende Lebewesen, wie etwa Steinkorallen,

permanent gebunden. Die Veränderung des Klimas, sowie der Anstieg der Kohlenstoffdioxidkonzentration in der Atmosphäre wirken sich in verschiedener Weise auch auf die Ozeane und die Meere aus. Zum einen steigt die CO₂-Konzentration im Meer, was zur sogenannten Versauerung der Ozeane führt. Zum anderen verringert sich bei steigender Meerestemperatur die Löslichkeit des CO₂.

Korallen in verschiedenen klimatischen Umgebungen

Insbesondere in tropischen Breiten wachsen und gedeihen die für den Kohlenstoffkreislauf der Erde wichtigen Korallen. In der Meerwasserversuchsanlage (MAREE) des Leibniz-Zentrums für Marine Tropenforschung (ZMT) kann eine tropische Meeresumwelt simuliert und ökophysiologische Versuche durchgeführt werden.

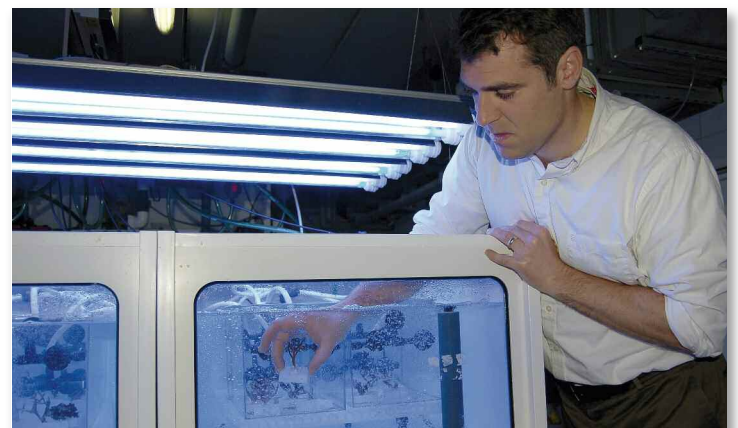


Abbildung 1: Prof. Dr. Justin Ries von der Northeastern University (USA) setzt Steinkorallen für die Experimente in die Versuchsanlage des ZMT Bremen

Um die möglichen Auswirkungen der Erwärmung und der erhöhten CO₂-Konzentration im Meerwasser auf Korallen zu erforschen, wurden in verschiedenen Versuchsreihen, Korallen in unterschiedlichen Umgebungen beobachtet. Dabei wurden in den Versuchsaquarien unterschiedliche Temperaturen eingestellt sowie mit einer Gasmischanlage vorindustrielle, heutige und zukünftige CO₂-Konzentrationen untersucht. So wurden über viele Wochen die Wachstumsraten der Korallen bestimmt.

Verschiedene Korallen

Die Versuche wurden an den Tropischen Steinkorallen *Stylophora pistillata*, *Pocillopora damicornis* und *Seriatopora hystrix*, sowie an der Kaltwasser-Koralle *Lophelia pertusa* durchgeführt. Sie sind Teil der Forschungen von Prof. Justin Ries von der „Northeastern University“ (Boston, Massachusetts, USA). Prof. Ries war dazu mit seinem Team für mehrere Monate am ZMT in Bremen zu Gast, um die Versuche durchzuführen und auszuwerten. Um die Wasserbedingungen in den Versuchsaquarien zu beschreiben, dienen neben der Temperatur, der pH-Wert, die Alkalinität (Säurepufferung), die Salinität (Salzgehalt) und der DIC (gelöster anorganischer Kohlenstoff). Während dieser Versuche wurden vor allem die Alkalinität und der DIC fortwährend analysiert.

DIC-Bestimmung

Zur Bestimmung des DIC hat sich international ein coulometrisches Referenzverfahren durchgesetzt. Dabei wird ein Aliquot der Meerwasserprobe mit einer Phosphorsäure versetzt. Das entstehende CO₂ wird mittels eines Trägergases in die Messzelle eines Coulometers geführt und wird dort in einer Reaktionslösung absorbiert (Ethanolamin in Dimethylsulfoxid). Das CO₂ reagiert dort mit dem Ethanolamin zu Hydroxyethylcarbaminsäure und führt zu einer Entfärbung des in der Reaktionslösung enthaltenen Indikators. Die entstandene Hydroxyethylcarbaminsäure wird durch die elektrochemische Bildung von OH-Ionen neutralisiert. Die dabei



Abbildung 2: TOC-L

verbrauchte Strommenge dient der Berechnung der Konzentration des DIC.

Erfahrungsgemäß dauert die Analyse einer Meerwasserprobe (Einfachbestimmung) mittels Referenzverfahren etwa 15 Minuten. Hinzu kommen eine längere Temperierung der Proben und eine lange Equilibrierung des Analysensystems. So können an einem 8-stün-

eines Wassers zu erfassen, ist die Bestimmung des TOC (Total Organic Carbon). Dabei wird ein Aliquot der Wasserprobe auf einen 680 °C heißen Platinkatalysator injiziert. Das bei der Verbrennung entstehende Kohlenstoffdioxid wird mittels Trägergas zu einem NDIR-Detektor geführt und erfasst. Bei dieser Bestimmung ist es notwendig, den anorganischen Kohlenstoffanteil vor der Verbrennung vollständig zu entfernen oder separat zu bestimmen und rechnerisch zu berücksichtigen (Differenzbildung).

Ein hochsensitiver TOC-Analysator (Shimadzu, Abbildung 2) wurde verwendet um den DIC separat zu bestimmen. Hierbei wird ein Aliquot der Probe in eine Phosphorsäurevorlage injiziert. Das dabei entstehende CO₂ wird mittels Trägergas zu einem NDIR-Detektor geleitet und erfasst. Die Einfachbestimmung einer

Seewasserreferenzstandards“ und Meerwasser und Leitungswasser mit beiden Verfahren in unterschiedlichen Konzentrationsniveaus gemessen. Die Werte beider Methoden wurden in einem Diagramm (Abbildung 3) gegeneinander aufgetragen (Konzentrationsangabe in µmol/l).

Auswertung

Die Auswertung der Gleichwertigkeitsprüfung zeigte eine deutliche Übereinstimmung beider Verfahren. Sie zeigten eine gute Reproduzierbarkeit (± 6 µmol/l) und eine hervorragende Richtigkeit (± 4 µmol/l) für diese Art von Experiment. Zudem verbraucht das alternative DIC-Verfahren keine teuren sowie giftigen Reagenzien, wie das Referenzverfahren. Die Verbrauchskosten für eine Analyse liegen bei dem alternativen Verfahren bei 20 % im Vergleich zur Referenzmethode. Zusätzlich spart das neue Verfahren wertvolle Analysenzeit. Es lässt sich in Verbindung mit einem Autosampler vollständig automatisieren.

Fazit

Um die Risiken und Auswirkungen der Klima-Veränderung einschätzen zu können, bedarf es vieler Forschungen, die auf schnelle, genaue, reproduzierbare und kostengünstige Analysenverfahren angewiesen sind. Auch der Völkerrechtsvertrag OSPAR, der den Schutz der Nordsee und des Nordatlantiks behandelt, beschreibt in seinen Richtlinien für die Untersuchung von Meerwasser (JAMP Guidelines for Monitoring Chemical Aspects of Ocean Acidification (2014)) die Bestimmung von CO₂ im Meerwasser. Das DIC-Verfahren mittels TOC-Analysator stellt ein sicheres, exaktes und schnelles Alternativverfahren dar.

Danksagung

Der Autor bedankt sich bei Matthias Birkicht und Dieter Peterke (ZMT) für wertvolle Daten.

Für Sie gelesen in GIT Laborfachzeitschrift 6/17

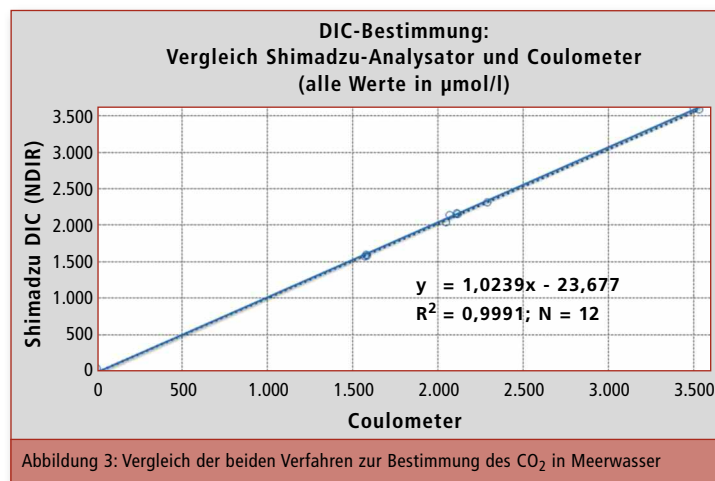


Abbildung 3: Vergleich der beiden Verfahren zur Bestimmung des CO₂ in Meerwasser

digen Arbeitstag etwa zehn Proben analysiert werden. Bei den oben genannten Experimenten fielen je Tag 36 Meerwasserproben zur DIC-Analyse an. Es wurde daher nach einer alternativen Analysenmethode gesucht, die vergleichbare Ergebnisse liefert, über eine hohe Reproduzierbarkeit verfügt, automatisierbar ist und kürzere Analysenzeiten bietet. Zudem war die Verwendung von geringeren Probemengen gewünscht (25 ml anstelle von 100 ml beim Referenzverfahren).

Alternatives Messverfahren

Ein im Umweltbereich etabliertes Verfahren organische Belastung

DIC-Konzentration dauert etwa drei Minuten. Der zeitliche Vorteil dieser Methode war offensichtlich. Bevor sie aber eingesetzt werden konnte, musste die Gleichwertigkeit zum Referenzverfahren belegt werden.

Dazu sollten beide Verfahren eine übereinstimmende Genauigkeit und Richtigkeit aufweisen. Außerdem sollte die Reproduzierbarkeit < 1 % sein. Um die Gleichwertigkeit zu belegen, hat der Entwicklungsingenieur vom ZMT, Dipl.-Ing. Matthias Birkicht, mit seinem Kollegen Dieter Peterke eine große Messkampagne durchgeführt. Hier wurden synthetische Standardlösungen der „Dickson-



Schnelle GC ohne Handbremse

Filterzeitkonstante und Aufnahme­frequenz verbessern Signal-Rausch-Verhältnis

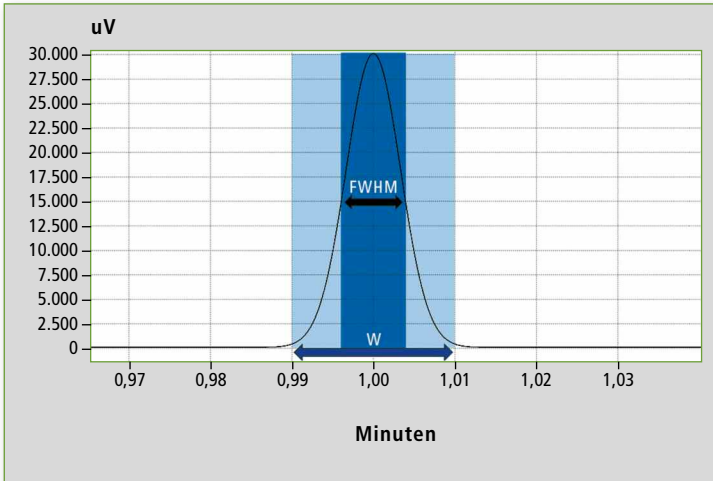


Abbildung 1: Definition der Signal-Halbwertsbreite (FWHM) und Basisbreite (w)

Das schnelle Ansprechverhalten von Detektoren wird in der Gas-Chromatographie häufig nur über die maximale Aufnahme­frequenz (Sampling Frequency) charakterisiert. Bei Anwendung neuester Techniken mit kurzzeitigen Signalen wird es aber nötig, auch die Rauschfilterung anzupassen (Filter Time Constant). Bleibt dieser Parameter unverändert, ist das Ansprechverhalten des Detektors zu langsam und die Abbildung des Signals wird verfälscht.

Das Signal-Rausch-Verhältnis entscheidet

In der Analytik bestimmt das Verhältnis Signalthöhe zum Basislinienrauschen generell die zu erreichende Nachweisgrenze. Entwicklungen in der Gas-Chromatographie führen deswegen zu immer schärferen und damit höheren Signalen. Die Signalschärfe wird über die Halbwertsbreite (FWHM) oder die Basisbreite (signal width, Abbildung 1) bestimmt. Je schärfer

die erwarteten Signale sind, desto schneller muss das Ansprechverhalten eines Detektors eingestellt werden, um Signale im Chromatogramm einwandfrei darzustellen.

Zunächst wird dafür die Aufnahme­frequenz angepasst. Shimadzu empfiehlt etwa 25 Messpunkte pro Signal zu kalkulieren, um auch nicht-symmetrische Signale (zum Beispiel durch Tailing) sauber abzubilden. Bei Signalbasisbreiten $> 2,5$ s ist eine Aufnahme­frequenz von 10 Hz hinreichend.

Die vom Detektor gemessene Basislinie ist somit eine Extrapolation über Messpunkte die alle 0,1 s aufgenommen wurden. Weil unnötig hohe Aufnahme­frequenzen das Basislinienrauschen erhöhen, sollte die Frequenz den Signalbreiten genügen, aber nicht unnötig zu hoch gesetzt werden.

Bei schnellen GC-Techniken können Signalbasisbreiten < 1 s

erreicht werden. Nähert man sich mit der Signalbreite einer Sekunde, muss die Aufnahme­frequenz auf 25 Hz erhöht werden. Essenziell wird aber auch ein zweiter Parameter – die Rauschunterdrückung.

In einem Gas-Chromatographen reduzieren elektronische Rauschfilter das Detektorrauschen. Prinzipiell werden die hochfrequenten Anteile in der Basislinie durch den Filter gemindert, wobei die gemessenen Signale möglichst unbeeinträchtigt bleiben sollen. Werden Signale schärfer, muss die Rauschfilterung über die Filterzeitkonstante angepasst werden.

Der Nachteil ist: Mit Verkleinerung der Filterzeitkonstante vermindert sich die Rauschunterdrückung, und das Basislinienrauschen steigt. Aber der Aufwand lohnt, wenn scharfe Signale sauber abgebildet und somit ein besseres Signal-Rausch-Verhältnis erreicht wird.

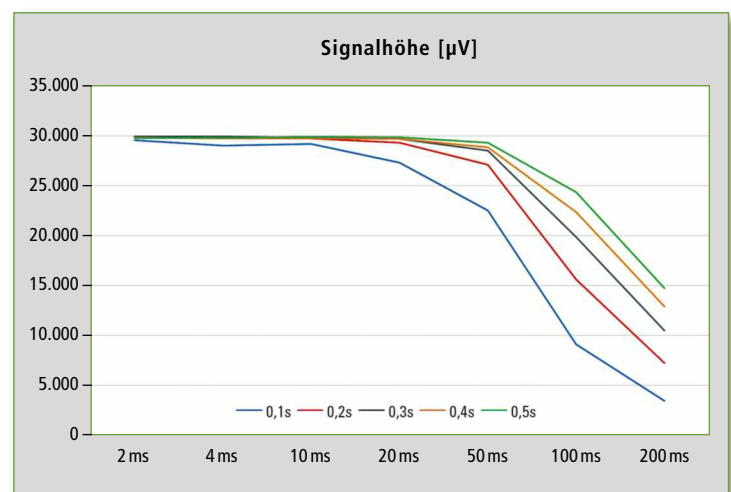


Abbildung 2: Abnahme der Signalthöhe bei schrittweiser Erhöhung der Filterzeitkonstante von 2 auf 200 ms. Dargestellt sind die gemessenen Signalthöhen für die vorgegebenen Signale mit Halbwertsbreiten von 0,1 - 0,5 s. Die Aufnahme­frequenz wurde dabei konstant bei 500 Hz gehalten.

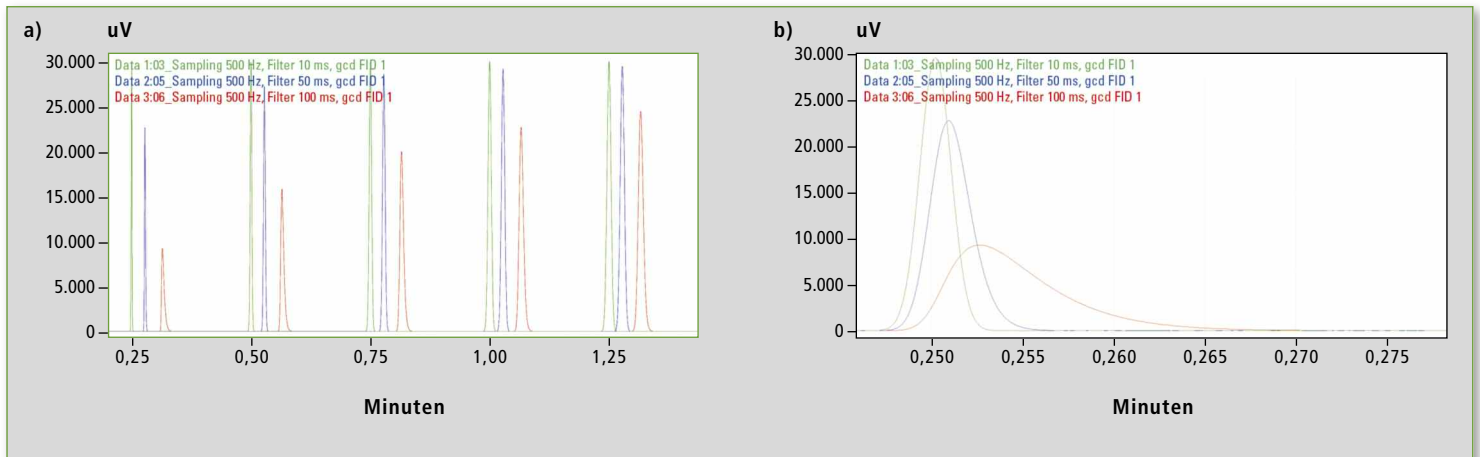


Abbildung 3: Unter (a) sind Dreiergruppen der fünf Signale mit Halbwertsbreiten 0,1 bis 0,5 s dargestellt. Die Farben innerhalb einer Dreiergruppe stehen für verschiedene Filterzeitkonstanten (grün 10 ms, blau 50 ms, rot 100 ms). Generell kommt es zu einer Verbreiterung und einem Verlust an Signalthöhe mit wachsender Filterzeitkonstante, besonders gut zu beobachten beim schärfsten Signal mit Halbwertsbreite 0,1 s (siehe Zoom in b).

Wenn Signale der Rauschunterdrückung zum Opfer fallen

Der neue Gas-Chromatograph Nexis GC-2030 erlaubt für jeden Detektor eine maximale Aufnahme­frequenz von 500 Hz in Verbindung mit einer minimalen Filterzeitkonstante von 2 ms. Theoretisch ist damit die einwandfreie Abbildung von Signalen mit einer Basisbreite von 0,05 s möglich, was für alle derzeitigen Techniken mehr als genügt.

Um zu vermitteln, wie wichtig die Anpassung der Filterzeitkonstanten ist, wurden Signale mit fünf verschiedenen Halbwertsbreiten über den integrierten Peak-Generator des Nexis GC-2030 erzeugt. Diese unterliegen der Rauschfilterung, wie jedes normal gemessene Signal. Bezüglich Beeinträchtigung über die Aufnahme­frequenz muss eingeschränkt werden, dass die künstlichen Signale hochsymmetrisch sind und deswegen auch mit niedrigen Aufnahme­frequenzen recht gut abgebildet werden.

Bestimmt wurde der Einfluss von Filterzeitkonstante und Aufnahme­frequenz auf fünf Signale, generiert mit Halbwertsbreiten von 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 s. Die resultierenden Basisbreiten sind 0,39, 0,76, 1,09, 1,59 und 2,04 s. Alle fünf Signale haben eine festgelegte Höhe von 30.000 µV. Abweichungen von diesem Wert sind Abbildungsfehler, aufgrund des Ansprechverhaltens der Detektorsignalbearbeitung.

In einer ersten Messreihe wurde dieses Muster bei konstanter Aufnahme­frequenz von 500 Hz mit verschiedenen Filterzeitkonstanten gemessen. Abbildung 2 zeigt die Auswirkung auf die Signalthöhe. Bis zu einer Filterzeitkonstante von 10 ms bleiben alle Signale nahezu unbeeinträchtigt. Mit steigender Filterzeitkonstante werden schärfere Signale zunehmend kleiner, bis ab 100 ms auch das Signal mit Halbwertsbreite 0,5 s dem Rauschfilter unterliegt und kleiner wird. Bei Filterzeitkonstante 200 ms bleiben vom schärfsten Signal (Halbwertsbreite 0,1 s) nur 10 % der eigentlichen Signalthöhe 30.000 µV übrig.

Abbildung 3 zeigt, wie sich die steigenden Filterzeitkonstanten (10, 50, 100 ms) auf die Form der Signale auswirken. Wird die

Rauschfilterung jenseits einer Filterzeitkonstanten von 10 ms weiter verstärkt, beeinflusst dies die Signaltiefe. Bei einer Filterzeitkonstanten 200 ms verzehnfacht sich die Halbwertsbreite des Signals von ursprünglich 0,1 auf 0,96 s; die Basisbreite des Signals wächst noch stärker von ursprünglich 0,39 s auf 5,43 s.

Geringere Auswirkungen bei der Aufnahme­frequenz

Wie wirkt sich nun die Änderung der Aufnahme­frequenz unter gleichen Bedingungen aus? Wiederum werden fünf Signale generiert mit Halbwertsbreiten 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 und 0,5 s. Diesmal bleibt die Filterzeitkonstante konstant bei 2 ms, die Aufnahme­frequenz wird von 500 Hz auf 10 Hz schrittweise reduziert. Das Ergebnis (Abbil-

dung 4) zeigt einen weniger drastischen Einfluss verglichen mit der Änderung der Filterzeitkonstante (Abbildung 2). Bis 50 Hz ist nur eine geringe Abnahme der Signalthöhe beim Signal mit 0,1 s Halbwertsbreite zu beobachten. Wird die Aufnahme­frequenz weiter verringert, verkleinert sich die Signalthöhe des Signals von ursprünglich 30.000 µV auf etwa 20.000 µV.

Zusammenfassung

Ein mit jedem Nexis GC-2030 durchführbares Experiment zeigt, dass es bei Anwendung neuester Techniken in der Chromatographie nicht genügt, allein die Aufnahme­frequenz an resultierende Signalschärfen anzupassen. Vielmehr muss auch die Rauschunterdrückung modifiziert werden. Es gilt das Detektorrauschen möglichst klein zu halten, ohne Form und Höhe der gemessenen Signale nennenswert zu beeinträchtigen. Nur die geeignete Anpassung der Filterzeitkonstanten nebst Aufnahme­frequenz führt zum besten Signal-Rausch-Verhältnis, welches letztendlich die zu erzielende Nachweisgrenze definiert – und Schnelle GC ohne Handbremse ermöglicht.

Literatur

J.V. Hinshaw, LCGC (2002), Band 15, Seite 152

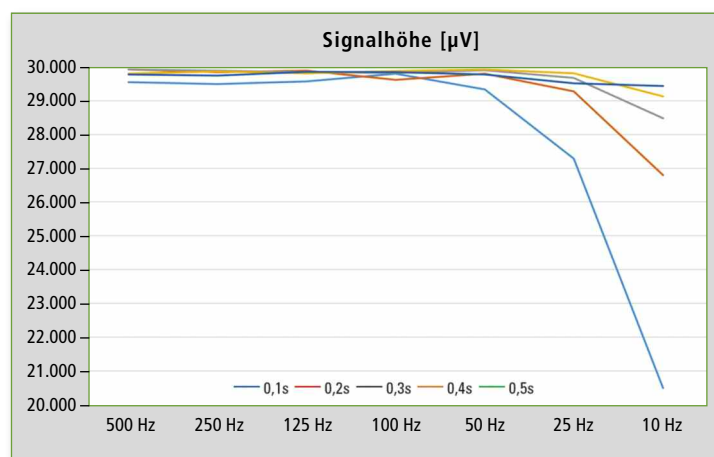


Abbildung 4: Abnahme der Signalthöhe mit Verringerung der Aufnahme­frequenz von 500 Hz auf 10 Hz für die gegebenen Signale mit Halbwertsbreiten von 0,1 - 0,5 s. Die Filterzeitkonstante wurde dabei konstant bei 2 ms gehalten.



Optimales Handling analytischer Daten in regulierten Laboratorien

Gestiegene Anforderungen durch cGMP und wie man ihnen begegnet



Shimadzu Laboratory World in Duisburg

Mit der Zunahme der digitalen Messdatenauswertung und -freigabe in den letzten Jahren wurde auch die Datenintegrität – also die Unveränderlichkeit von Daten – immer bedeutender. Durch die elektronische Datenverarbeitung können Modifikationen der Daten vorsätzlich oder unabsichtlich erfolgen, wie Veränderungen von Auswertungen oder das Ersetzen von Datensätzen. Werden diese Daten zum Beispiel für die Freigabe von Medikamenten oder Wirkstoffen verwendet, kann eine Manipulation im schlimmsten Fall ernsthafte gesundheitliche Konsequenzen für die jeweiligen Patienten haben. Daher legen behördliche Auditoren bei Betriebsprüfungen ein besonderes Augenmerk auf die Maßnahmen zur Datenintegrität.

Während Kontrollen durch die US-amerikanische Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelzulassungsbehörde FDA (Food

and Drug Administration) sind mehrfach Unternehmen wegen mangelnder Datenintegrität aufgefallen, sodass die Behörde im April 2016 dazu eine Richtlinie veröffentlicht hat. „Data Integrity and Compliance with cGMP“ verdeutlicht, dass die Integrität von Daten als eines der zentralen

Qualitätsthemen der FDA aufgefasst wird. So wurden in den letzten Jahren zahlreiche Maßnahmen wie „Warning Letters“ veröffentlicht; sie führen die häufigsten Probleme bezüglich der Leitlinie 21 CFR 211 & 212 auf ebenso wie die Prinzipien der elektronischen Aufzeichnungen entsprechend der

Leitlinie 21 CFR Part 11. In anderen Fällen wurden Importsperrern in Folge von Verstößen verhängt.

Die Richtlinie enthält weiterhin genauere Erläuterungen der im Sprachgebrauch üblichen Begriffe wie zum Beispiel Data Integrity, Audit Trails und Meta Data. Auch wenn sie nicht den Anspruch erhebt, wie im Detail die Anforderungen zu erfüllen sind, werden die wichtigsten Themen seitens der FDA in 18 Fragen und Antworten aufgeführt.

Datenintegrität ist kein neues Konzept; sie ist Bestandteil der cGMP-Anforderungen wie

- § 211.68 requires that backup data are exact and complete, and secure from alteration, inadvertent erasures, or loss
- § 212.110(b) requires that data be stored to prevent deterioration or loss
- § 211.100 and § 211.160 require that certain activities be documented at the time of performance and that laboratory controls be scientifically sound
- § 211.180 requires true copies or other accurate reproductions of the original records; and

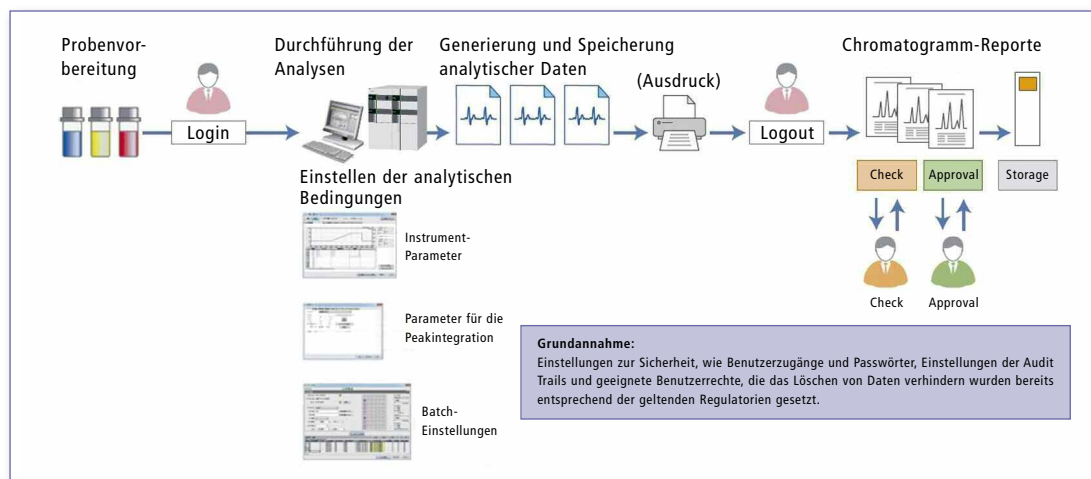


Abbildung 1: Schematischer Vorgang der Datenaufnahme und -verarbeitung am Beispiel einer HPLC-Analyse

- § 211.188, § 211.194, and 212.60 (g) require complete information, complete data derived from all tests, complete record of all data, and complete records of all tests performed. [1]

ALCOA – der gute Umgang mit Daten

Für einen guten Umgang mit Daten steht das „ALCOA“-Prinzip für Accurate, Legible, Contemporaneous, Original und Attributable, also akkurat, lesbar und permanent, zeitgleich, original und zur jeweiligen Person zurechenbar. Dieses Prinzip lässt sich auf den gesamten Lebenszyklus von Daten anwenden.

- „Akkurat“ behandelt z.B. die Validierung von Geräten, um zu belegen, dass Messdaten korrekt aufgezeichnet werden, das Freigeben der Daten durch einen Laborleiter im Vier-Augen-Prinzip und die Validierung von Software und elektronischen Systemen, um auch hier eine korrekte Ablage der Daten nachzuweisen.
- „Lesbar und permanent“ richtet sich vornehmlich an die Absicherungen gegen Veränderungen der Daten. So müssen handschriftliche Daten mit einem dokumentenechten Stift in lesbarer Form aufgezeichnet und Korrekturen zu Daten geeignet durchgeführt werden. Weiterhin muss für sämtliche Daten eine Veränderungshistorie durch einen Audit Trail vorhanden sein.
- „Zeitgleich“ beschreibt die Aufzeichnung von Daten. Diese muss direkt nach dem jeweiligen Prozess erfolgen, wie z.B. einer Messung im Labor, und darf weder vor- noch zurückdatiert werden. In elektronischen Systemen dürfen Uhrzeit und Datum nicht veränderlich sein und jegliche Änderung im Datensatz muss direkt nach der Eingabe gespeichert werden.
- Da Daten zusätzlich „original“ vorhanden sein müssen, muss von jeglichen Messungen auch der jeweilige Satz an Rohdaten erhalten und archiviert bleiben und Änderungen müssen nachverfolgbar sein.
- Der letzte Punkt „zur jeweiligen Person zurechenbar“ beinhaltet, dass alle zuvor genannten Pro-

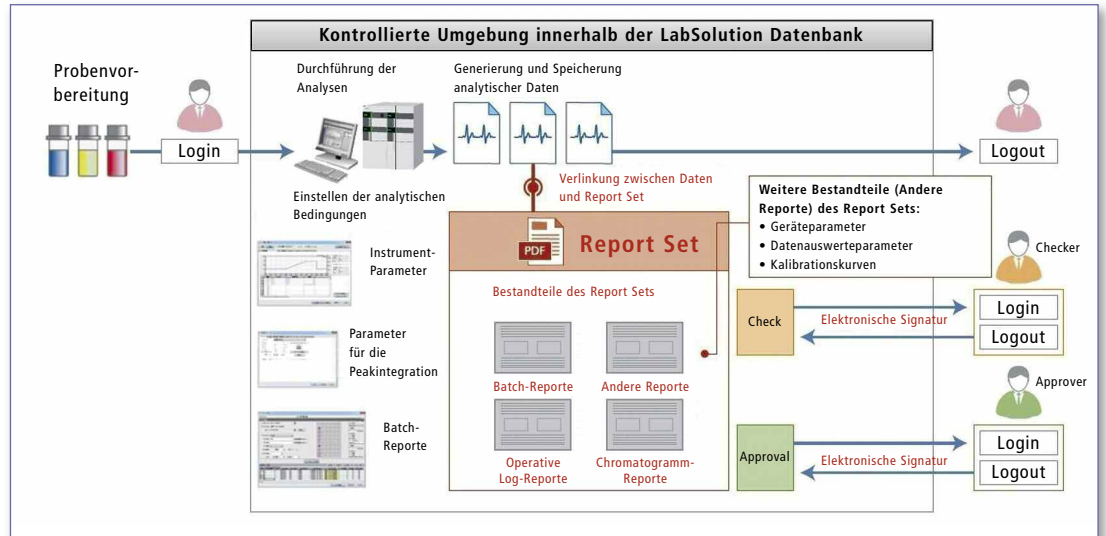


Abbildung 2: Data Integrity Compliance mit dem LabSolutions DB/CS Report Set

zesse der durchführenden Person zuordenbar sein müssen. Jeder, der Daten aufnimmt oder sie weiterbehandelt, muss dies durch eine persönliche Signatur und Datierung kenntlich machen. Bei der Verwendung elektronischer Systeme ist daher ein personalisierter Zugang und eine elektronische Unterschriftenregelung unabdingbar.

Näheres dazu ist der Richtlinie „Data Integrity and Compliance with cGMP“ zu entnehmen. [1]

Gerätehersteller unterstützen Messdatenintegrität

Durch die vielen Verstöße in den letzten Jahren wenden die FDA-Auditoren während ihrer Überprüfungen das Verdachtsprinzip an, das heißt, sie gehen grundsätzlich von einer Nichteinhaltung der Regularien aus. Diese Veränderung im Vergleich zu vorherigen Audits hat zur Folge, dass ein lückenloser Nachweis der Integrität von Messdaten im kontrollier-

ten Umfeld unabdinglich geworden ist. [2]

Auch die Anbieter von Chromatographie-Daten-Systemen, also Software zur Aufnahme, Verarbeitung, Verwaltung und Speicherung von Daten aus analytischen Messungen, haben sich durch dezidierte Funktionen zur Datenintegrität auf diese geänderten Gegebenheiten eingestellt, um Betriebe im kontrollierten Umfeld beim Thema Datenintegrität und FDA-compliance zu unterstützen.

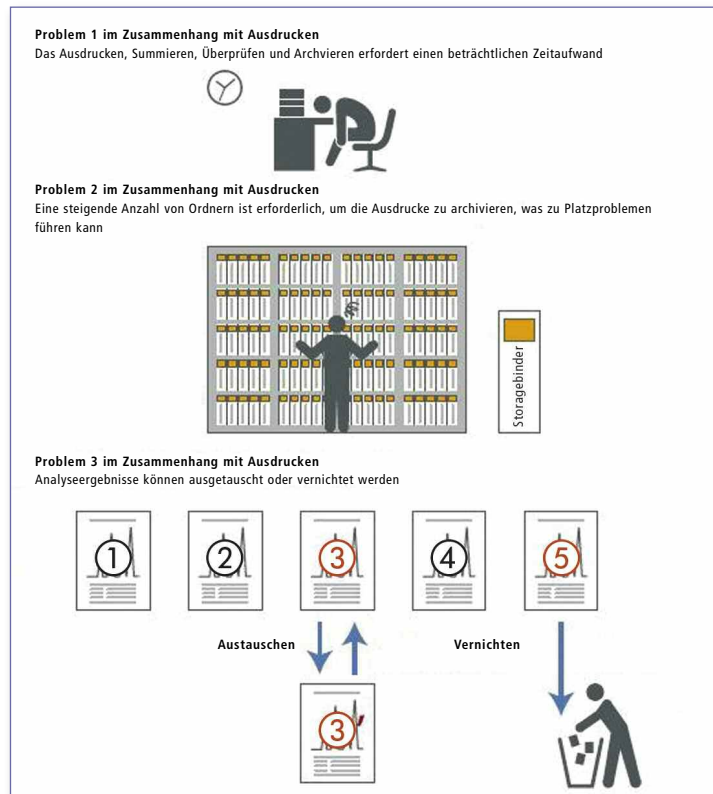


Abbildung 3: Probleme mit ausgedruckten Analyseberichten

Fallstricke bei der Datenintegrität anhand einer HPLC-Analyse

Um die notwendigen Funktionen und Vorkehrungen im analytischen Arbeitsalltag zu verdeutlichen, werden hier am Beispiel einer HPLC-Analyse die möglichen Fallstricke bei der Datenintegrität beleuchtet. In einem rein papierbasierten Labor erfolgt ein Arbeitsablauf entsprechend dem Schema in Abbildung 1.

Ein Labormitarbeiter loggt sich am entsprechenden PC ein, nimmt dort Daten auf, verarbeitet sie weiter und druckt sie schließlich aus. Die ausgedruckten Chromatogramme werden überprüft und freigegeben und anschließend in einem Aktensystem gelagert. Auf den ersten Blick sieht es also so aus, als ob diese Vorgehensweise akzeptabel wäre, solange entsprechende Sicherheitseinstellungen wie Zugangsdaten, Einstellungen zum Audit Trail und die

Nutzerberechtigungen zum Löschen von Daten angemessen gewählt wurden.

Im Normalfall werden bei der Papierdokumentation für die Beurteilungen nur die ausgedruckten Chromatogramme beurteilt. Die Einstellungen der Instrumente, der Datenverarbeitung, der Proben-tabelle oder andere Parameter werden für gewöhnlich nicht berücksichtigt. Für eine verlässliche Beurteilung ist eine Betrachtung all dieser Faktoren jedoch notwendig. [3]

Anhand des Ausdrucks kann nicht erkannt werden, wie der Gesamtdatensatz zum Zeitpunkt des Ausdrucks genau aufgebaut war. Egal wie sicher ein elektronisches Datenverarbeitungssystem oder eine Software auch ist, sie ist immer abhängig von der Eingabe der Nutzer. Daher ist es selbst bei strengsten Sicherheitsvorkehrungen am Computer nur schwer möglich, unzulässige Handlungen zu unterbinden, zum Beispiel beim Festlegen der analytischen Bedingungen oder dem Auswerten analytischer Daten.

Optische Kennzeichnung jeder händischen Manipulation auf einen Blick

Wie kann also bewiesen werden, dass keinerlei unzulässige Handlungen während der Datenaufnahme oder -auswertung unternommen wurden, um die Analyseergebnisse zu verfälschen? Ein solcher Beweis kann nur dann erbracht werden, wenn sämtliche Rechenoperationen und Prozesse bei der Datenverarbeitung einfach sichtbar sind. Dies kann erreicht werden, indem alle durch den Menschen durchgeführten Aktionen, wie die Einstellung der Trennbedingungen oder die Auswertung der analytischen Daten zusammengestellt und leicht erkennbar als manuelle Schritte gekennzeichnet werden. Durch die optische Kennzeichnung jeder händischen Manipulation ist somit auf einen Blick sichtbar, falls unzulässige Prozesse wie das Modifizieren oder Ersetzen von Daten stattgefunden haben.

Die LabSolutions CS oder DB von Shimadzu nutzt dabei die

sogenannte „Report Set“ Funktion. Sie erstellt automatisch einen Satz von pdf-Reports, wie zum Beispiel Batch-Analyse, Operations-Log und Chromatogramme, die anschließend in ein einziges Dokument überführt werden. Dieses Report Set liefert zudem Informationen über manuelle und automatisierte Aktionen, sodass bei einer Datenmanipulation (zum Beispiel durch Austausch fehlerhafter Daten) ein dokumentierter Beweis für das Fehlverhalten vorliegt, der auf einen Blick erkenntlich ist.

Abbildung 2 (Seite 13) zeigt schematisch den Ablauf der Computeroperationen bei Verwendung der „Report Set“ Funktion in der LabSolutions DB/CS Software, wodurch Daten verlinkt und angezeigt werden.

Im Folgenden sind drei Hauptmerkmale der Berichtssätze aufgeführt.

Hauptmerkmal 1:

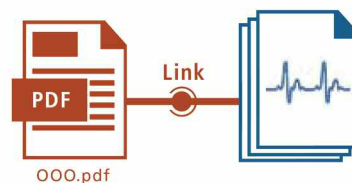
Die Sichtbarkeit der einzelnen Analyseschritte erleichtert, die Ergebnisse zu überprüfen und bietet Sicherheit.



Die Report-Set-Funktion beinhaltet nicht nur die Ergebnisse aus einer Sequenz von Analysen (Batch), sondern auch die Ergebnisse und Schritte aus der Nachbearbeitung im Postrun. Im Operation-Log-Report werden Analyse und Nachbearbeitung vom Start bis zum Ende des analytischen Prozesses dokumentiert. Ähnlich komfortabel wie bei einem e-Book lassen sich die einzelnen Schritte Seite für Seite verfolgen, ohne dass der Nutzer zwischen verschiedenen Fenstern hin- und herschalten muss, um Bedienschritte und Einstellungen zu überprüfen. Dies bietet neben einer Arbeitserleichterung auch zusätzlich mehr Sicherheit.

Hauptmerkmal 2:

Die Resultate analytischer Serien werden automatisch gegen Modifikation geschützt.

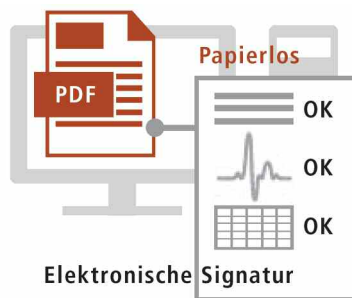


Wenn einmal ein digitaler Zusammenhang zwischen analytischer Serie, analytischen Resultaten (digitalen Daten) und dem Report Set erzeugt wurde, ist eine weitere Datenmanipulation nicht mehr möglich. Dadurch wird sichergestellt, dass Modifikationen wie Datenaustausch oder das Löschen von Daten verhindert werden.

Diese digitale Verlinkung der einzelnen Daten bietet nicht nur eine einzigartige Beziehung zwischen Report und Analyseergebnissen (digitalen Daten), sondern sie erleichtert auch das Suchen und Überprüfen der Resultate.

Hauptmerkmal 3:

Erhöhte Produktivität dank Digitalisierung des Verifizierungsprozesses von Analysenreports.



Die Verifizierung der Reports (Report Confirmation Function) dient als Beweis dafür, dass die Analysenreports im PDF Report gesichtet wurden. Falls dies nicht geschah, generiert eine eingebaute Überwachungsfunktion eine Fehlermeldung.

Vorteile des papierlosen Systems:

Elektronische Signaturen werden für den Report-Sichtungs- und Freigabeprozess verwendet, wobei gleichzeitig die originalen, digita-

len Analysedaten herangezogen werden. Die Verwendung der elektronischen Signatur macht ein Ausdrucken der Reports mit anschließender Handsignierung überflüssig. Dementsprechend können Probleme mit ausgedruckten Analysenreports, wie sie in Abbildung 3 dargestellt sind, vermieden und zusätzlich noch Zeit gespart werden.

Fazit

Datenmanagement und -integrität bieten dem Anwender im kontrollierten Umfeld die nötige Sicherheit, behördlichen Regularien voll zu entsprechen. Die Report-Set-Funktion der LabSolutions DB/CS unterstützt die Datenintegrität und vereinfacht drastisch die Arbeitsabläufe in Laboratorien.

Literatur

- [1] <https://www.fda.gov/downloads/drugs/guidances/ucm495891.pdf>
- [2] <http://www.pharmtech.com/data-integrity-analytical-laboratory?pageID=1>, (Stand 07.03.2016).
- [3] Keiko Bansho. Chapter 5 Operations and Management for Paper-Based and Electronic Data for Compliance with Regulations by the Three Authorities. Recording and Managing Data and Migration to Digitization at Laboratories Based on the Issues Raised by the Three Authorities. Science & Technology, May 15, 2015, pp. 127-146.



Hinter den Kulissen

Anwender über das CLAM-2000



Video-Dreh zum CLAM-2000

Seit seiner Markteinführung auf der Analytica-Messe 2016 in München hat sich das CLAM-2000 als Wirbelwind auf den Fachveranstaltungen wie MSACL oder EuroMedLab erwiesen. Das System revolutioniert die klinische Routine-Analytik, indem es den Gebrauch von LC-MS/MS-Systemen in diesem Bereich erleichtert.

CLAM-2000 (Clinical Laboratory Automated sample preparation Module) automatisiert die Probenvorbereitung von Blut oder anderen biologischen Proben vor der LC-MS-Analyse. Es wurde für Kunden entwickelt, die Proben in pharmazeutischen und medizinischen Bereichen oder in biologischen Analyselabors bearbeiten, die einer fehleranfälligen Probenvorbereitung oder einem Infektionsrisiko unterliegen.

Im September 2016 hatte das CLAM-2000 sein Debüt in einem privatwirtschaftlichen Labor in Köln. Nach einjährigem Einsatz in weiteren Labors in ganz Europa liegen nun Anwendererfahrungen vor, wie das CLAM-2000 die Welt

der klinischen Analysatoren mit der Technologie der LC-MS/MS-Flüssigchromatographie gekoppelt an ein Massenspektrometer verbindet.

Shimadzu hat eine lange Erfahrung in der Herstellung klinischer Analysatoren, die als OEM-Versionen durch andere namhafte Anbieter vermarktet werden, wie die Werfen-Gruppe, Sekisui und Abbott. Gleichzeitig gelang Shimadzu durch die Einführung der ultraschnellen Technologien verbunden mit Empfindlichkeit und Stabilität ein wichtiger Durchbruch im LC-MS/MS-Markt für hoch anspruchsvolle Anwendungen wie die therapeutische Medikamentenüberwachung im Vollblut oder im Plasma. Der Vorteil in der Verknüpfung der Technologien beider Geschäftsfelder liegt darin den Zugang zur LC-MS/MS im klinischen Bereich zu vereinfachen und wird besonders durch einen Lückenschluss verdeutlicht: die Probenaufbereitung vor der LC-MS-Analyse, denn sie ist die Haupteinschränkung beim Vordringen in die Massenspektrometrie.

Blick hinter die Kulissen bei innovativen Wissenschaftlern und Forschern

Im August 2017 besuchte ein Video-Team einige Labore in Deutschland, Frankreich und Italien, um Anwendererfahrungen bezüglich der Arbeit mit einem CLAM-2000 zu sammeln. Dazu zählen Anwendungen in Universitätskliniken, Prüfung und Validierung in klinischen Laborbereichen, toxikologischer Analytik und privatwirtschaftlichen Laboren. Innovative Wissenschaftler und Forscher geben Einblicke in ihre täglichen Routineanwendungen mit dem CLAM-2000.

Prof. Franck Saint-Marcoux, Universitätsprofessor für Toxikologie an der Universität im französischen Limoges, bezeichnet die automatisierte Probenaufbereitung des CLAM-2000 als eine Revolution. Ihr Hauptvorteil besteht in der Beschleunigung des Proben-durchsatzes: CLAM-2000 lässt sich vollständig programmieren, was den Erklärungsbedarf untereinander bei Personal oder Fachkräften stark vermindert. „Ein globaler Einsatz der LC-MS/MS stellt somit kein Problem mehr dar“, sagt er.

„CLAM-2000 ist eine Art Fire-&-Forget-System: Es macht die gesamte Arbeit für Sie“, erklärt Dr. Lars Kröner, Abteilung für Toxikologie im Kölner Labor Dr. Wisplinghoff. Das Unternehmen ist auf einen Rundum-Service in der klinischen Toxikologie und klinischen Analytik für verschiedene Erkrankungen spezialisiert. Das Labor arbeitet für mehr als 40 Krankenhäuser und setzt das CLAM-2000 insbesondere für die täglich 50 bis 100 anfallenden Notfallproben ein. Somit müssen die Sequenzen mit bis zu pro Tag 1.000 Hochdurchsatzproben nicht unterbrochen werden. Dr. Kröner sieht einen der Hauptvorteile des Systems darin, dass es die Programmierung und somit den

Einsatz von hauseigenen Methoden erlaubt. „Wir können alle Methoden anderer Systeme auf das CLAM-System übertragen. Das Abändern von Parametern einer Methode ist einfach, da wir alle Programmierarbeiten selbst durchführen können.“

Für die klinische Forschungsabteilung in der Universitätsklinik Göttingen erweist sich das CLAM-2000 als ideales Werkzeug zur Probenmessung, auch für Anwenderpersonal ohne spezifische chromatographische und massenspektrometrische Erfahrung. Das CLAM-2000 wird per VPN (Virtual Private Network) kontrolliert, was eine Methodenentwicklung auch aus der Ferne ermöglicht. Der Abteilungsleiter Dr. Frank Streit sagt, dass „Genauigkeit und Präzision bei der Bestimmung der Analyte besser ist als beim Einsatz eines LC-MS-System und einer Offline-Probenaufbereitung.“

Auch Prof. Paolo Brambilla, Leiter des Labors für klinische Chemie im DESIO-Krankenhaus in Mailand, Italien, schätzt die höhere Genauigkeit, insbesondere bei niedrigeren Konzentrationen, und die gesteigerte Empfindlichkeit. Nach seiner Erfahrung verhindert ein CLAM-2000 zahlreiche Interferenzen: „Das System ist genau das, was wir in der klinischen Analyse brauchen.“

Die kurzen und kompletten Expertenbewertungen zum CLAM-2000 sind über den QR-Code zugänglich.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:



- www.shimadzu.eu/clam-2000-references-customers
- www.shimadzu.eu/clam-2k



In der Weihnachtsbäckerei...

Bestimmung von Mykotoxinen in Backzutaten mittels LC-MS



Feld mit sogenannten Feldpilzen (Fusarien). Dieser führt zu Pflanzenkrankheiten und zu einem geringeren Ernteertrag. Ungünstige Lagerung kann ebenfalls zu Schimmelpilzbefall durch Lagerpilze (Aspergillus- und Penicillium-Arten) führen.

Von Sekundärkontamination spricht man hingegen, wenn das schon fertiggestellte Lebensmittel durch falsche oder zu lange Lagerung verschimmelt. Dies ist durch den bekannten Schimmelfrasen leicht erkennbar.

Mykotoxine können aber auch durch Übertragung (Carry-Over) in unsere Lebensmittel gelangen. Nutztiere nehmen mit Mykotoxinen verunreinigte Futtermittel auf, die so (teilweise in metabolisierter Form) in die vom Tier stammenden Lebensmittel wie zum Beispiel Fleisch, Eier und Milchprodukte gelangen können.

Rätselhaftes Truthahn- und Forellensterben

Für die Mykotoxinforschung war das Jahr 1960 von zentraler Bedeutung. In diesem Jahr verendeten in England 100.000 junge Truthähne und in den USA 1 Million junger Forellen an der mysteriösen „Turkey X Disease“. Als Auslöser für dieses Massensterben konnte die Verfütterung von Erdrusspressrückständen identifiziert werden, die aus der Verarbeitung von verschimmelten Erdnüssen stammten. Der gewachsene Schimmelpilz *Aspergillus flavus*

Draußen dunkel und nass-kalt, drinnen warm und gemütlich, bei Kaffee oder Tee – und selbst gebackenen Plätzchen, ganz traditionell. So sehr Plätzchen auch die Seele wärmen, in ihren Zutaten können unsichtbare Gefahren lauern: Schimmelpilzgifte, auch Mykotoxine genannt. Dazu gehören neben Getreideerzeugnissen insbesondere Nüsse und Mandeln, Milchprodukte, Gewürze, Obst und Kakao. So findet man auf fettreichen, pflanzlichen Produkten wie Nüssen, Mandeln sowie Mais häufig Aflatoxine, während Ochratoxin A, Fumonisine, Deoxynivalenol und Zearalenon oft in Getreide und ebenfalls in Mais nachgewiesen werden können.

Aber was genau sind Mykotoxine?

Diese sekundären Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen haben unterschiedliche chemische

Strukturen, man kann sie weder sehen noch riechen. Sie sind weitgehend hitzestabil und werden daher beim Braten, Kochen oder Backen nicht zerstört. Sie können beim Menschen zu unterschiedlichen Erkrankungen führen, den sogenannten Mykotoxikosen – im Unterschied zu Mykosen, das heißt Krankheiten, die durch Pilze selbst ausgelöst werden. Außerdem begünstigen Mykotoxine die Entstehung von Krebs, schädigen Nieren- und Leber, beeinträchtigen das Immunsystem oder verursachen Durchfall und Erbrechen.

Mykotoxine stellen neben den Antibiotika die zweite große von Mikroorganismen synthetisierte Wirkstoffgruppe dar. Ebenso wie Antibiotika-bildende Mikroorganismen, sind Mykotoxin-bildende Schimmelpilzarten weltweit verbreitet. Nicht zu den Mykotoxinen im engeren Sinne gezählt werden die Giftstoffe, die in bestimmten höheren Pilzen (zum

Beispiel Knollenblätterpilz) enthalten sind. [1]

Kontamination und Übertragung von Mykotoxinen

Mykotoxine entstehen meist, wenn der Pilz besonders günstige Wachstumsbedingungen vorfindet, wie zum Beispiel feucht-warme Witterungsbedingungen. Es wird dabei in Primär- und Sekundärkontamination unterschieden. Primärkontamination ist der direkte Befall der Pflanze auf dem



Abbildung 1: Shimadzu Nexera X2 mit LCMS-8060

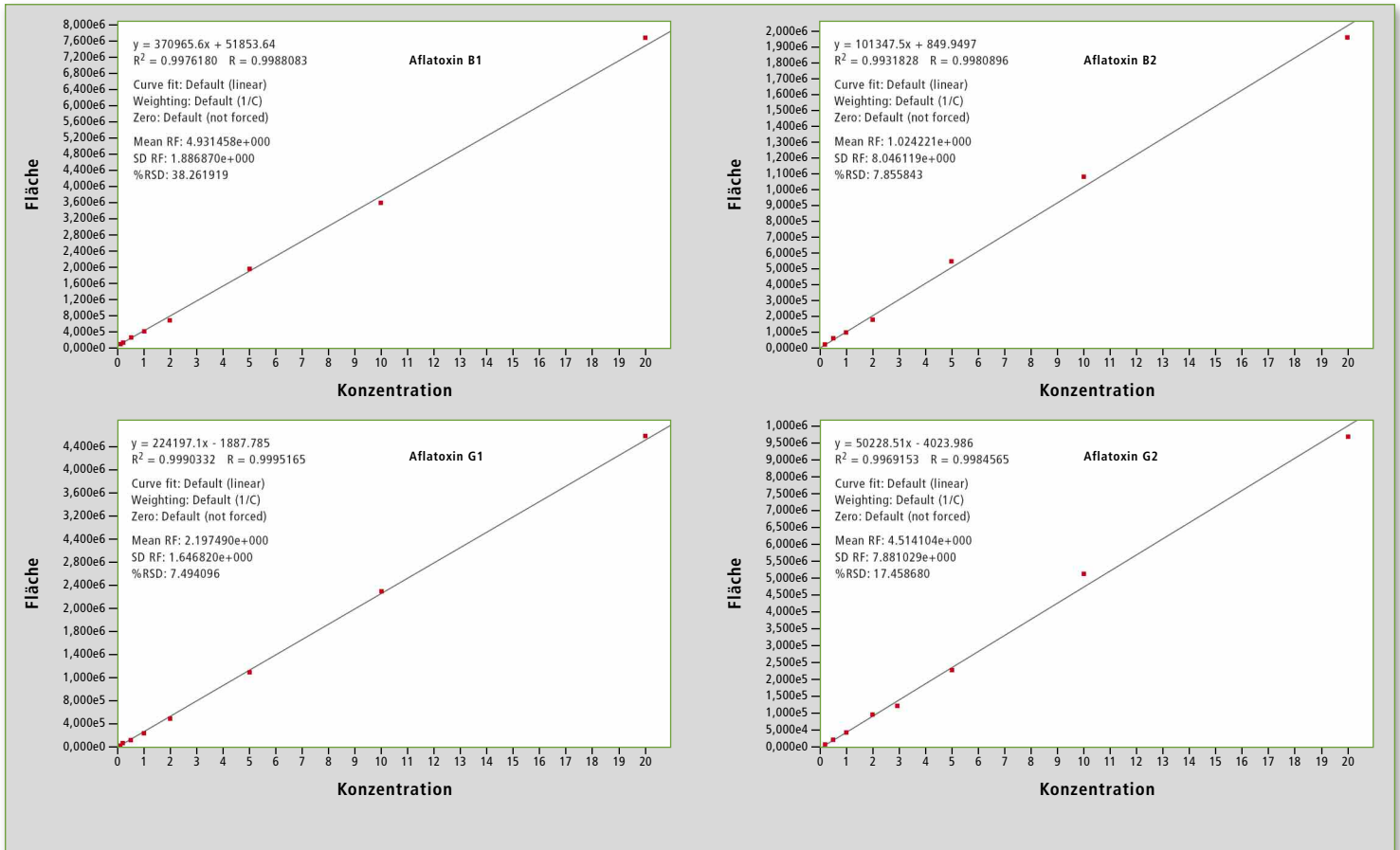


Abbildung 2: Kalibrationskurven der Aflatoxine B1 und B2 sowie G1 und G2, Konzentrationsbereich 0,1 µg/kg für B1 und G1 bzw. 0,2 µg/kg für B2 und G2 - 20 µg/kg

hatte bis dahin unbekannte Mykotoxine in hoher Konzentration gebildet, die sogenannten Aflatoxine. [2]

Gute landwirtschaftliche Praxis, gute Herstellungspraxis, Grenzwerte

Da mit Mykotoxinen belastete Futter- und Lebensmittel nicht mehr aufgereinigt werden können und dementsprechend nicht verwendet werden sollten, gilt es, den Pilzbefall und damit das Verschim-

meln von vornherein zu verhindern – durch Einhaltung einer guten landwirtschaftlichen Praxis sowie einer guten Herstellungspraxis. Der Endverbraucher sollte darauf achten, dass die Lebensmittel trocken und kühl gelagert werden; verfärbte Nüsse mit unangenehmem Geruch sollten nicht mehr verzehrt werden. Oft hilft das Abschneiden der verschimmelten Bereiche des betroffenen Lebensmittels nicht, da der Pilz sich schon unsichtbar ausgebreitet hat. Im Zweifel sollte ange-

schimmelte Ware nicht mehr verzehrt werden.

Aufgrund der Gefahr, die von Mykotoxinen ausgeht, sind in der Europäischen Union und in vielen anderen Ländern Grenzwerte festgesetzt. In der Europäischen Union erfolgt dies durch Verordnungen der EU-Kommission zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln (Verordnung (EG) Nr. 1831/2006 und Ergänzungen).

[3] So gelten für Aflatoxine in

Nüssen zum Beispiel Höchstgehalte von 2 µg für Aflatoxin B1 je kg sowie 4 µg für die Summe der Aflatoxine B und G je kg oder 50 µg Zearalenon pro kg in Brot, Backwaren, Keksen.

Es ist also wünschenswert möglichst viele der zu kontrollierenden Mykotoxine mit nur einer Analysemethode bestimmen zu können, unabhängig von Konzentrationsbereich und Probenmatrix. ▶

	Probe 1 Mandel	Probe 2 Mandel	Probe 3 Walnuss	Probe 4 Walnuss	Probe 5 Erdnuss	Probe 6 Haselnuss	Probe 7 Cashew	Probe 8 Weizen- mehl	Probe 9 Weizen- mehl	Probe 10 Weizen- mehl	Probe 11 Weizen- mehl	Probe 12 Dinkel- mehl	Probe 13 Dinkel- mehl	Probe 14 Hafer- flocken	Probe 15 Hafer- flocken	Probe 16 Hafer- flocken
Aflatoxin B1	< LOQ	0,31	--	--	--	1,65	< LOQ	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Aflatoxin B2	--	--	--	--	--	0,46	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Aflatoxin G1	--	--	< LOQ	< LOQ	--	2,74	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Aflatoxin G2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Summe Aflatoxine	--	0,31	--	--	--	4,85	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Ochratoxin A	--	--	--	--	--	--	--	--	--	6,77	--	0,64	--	< LOQ	0,14	< LOQ
Fumosinin B1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
Fumosinin B2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
HT-2 Toxin	--	--	--	--	--	--	--	--	< LOQ	< LOQ	--	--	--	9,80	24,59	6,01
T-2 Toxin	--	--	--	--	--	2,39	--	--	--	--	--	--	5,70	3,32	23,05	2,80
Zearalenon	--	--	--	--	--	< LOQ	--	< LOQ	< LOQ	6,35	--	< LOQ	--	< LOQ	< LOQ	< LOQ

Tabelle 1: Mess-Ergebnisse (in µg/kg) aller untersuchten Proben – rot dargestellte Ergebnisse überschreiten die zulässigen Höchstmengen

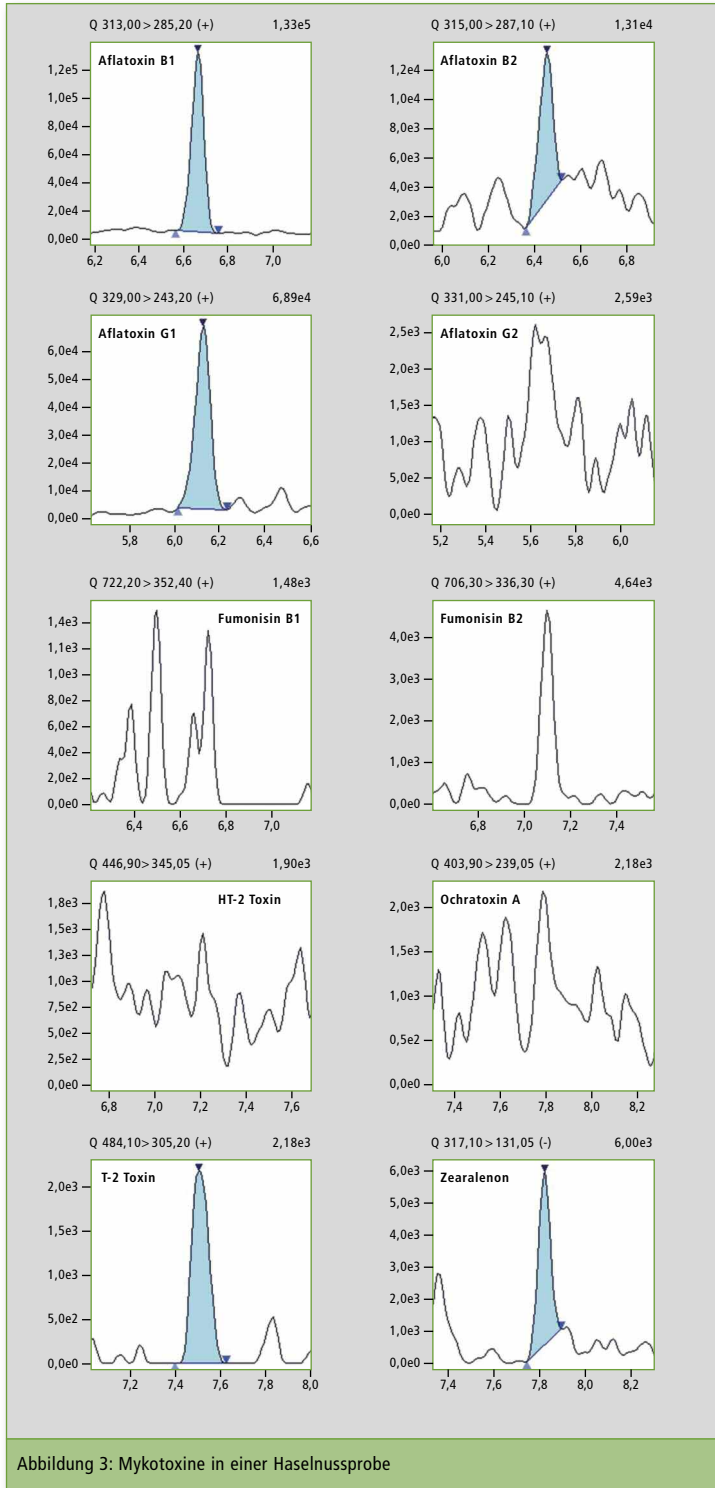


Abbildung 3: Mykotoxine in einer Haselnussprobe

Die Analyse solcher Multianalyt-Proben wird durch den zunehmenden Gebrauch von Flüssig-Chromatographie, gekoppelt an ein Triple-Quadrupol-Massenspektrometer (LC-MS/MS) erleichtert.

Empfindlicher Nachweis von Mykotoxinen mittels LC-MS

Das folgende Applikationsbeispiel zeigt ein Verfahren mit dem fast

alle relevanten Mykotoxine für Backzutaten mit nur einer Methode bestimmt werden können. (Für das Deoxynivalenol müsste man aufgrund der Polarität des Moleküls zu einer modifizierten Extraktionsmethode greifen.)

Die Probenvorbereitung wurde mit einem simplen „catch-and-release“ Verfahren mittels Festphasenextraktion (SPE, solid

phase extraction) durchgeführt. Fünf Gramm der gemahlenen Probe (Nüsse, Mandeln, Mehl etc.) wurden mit 20 ml eines Wasser-Acetonitril-Gemischs (50/50 v/v) versetzt und fünf Minuten im Ultraschallbad behandelt. Danach wurde die Probe für weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur geschüttelt, bevor nach Zentrifugation ein Teil des Überstands weiterverarbeitet wurde.

Der Überstand wurde mit Wasser verdünnt und nach entsprechender Konditionierung der Festphasensäulchen (ISOLUTE® Myco, Biotage, Cardiff, UK) in diese überführt, gewaschen und mit Lösungsmittel eluiert. Das Eluat wurde bis zur Trockene eingedampft und mit 300 µl einer 20 % Acetonitril/Methanol + 0,1 % Ameisensäure-Lösung rekonstituiert. Bevor die Probe in das LC-MS/MS System injiziert wird, empfiehlt es sich, diese noch durch ein Filtriergitter (0,45 µm PTFE) zu filtrieren.

Für die Analytik der extrahierten Proben wurde ein Nexera X2

UHPLC-System verwendet, gekoppelt an ein LCMS-8060 Triple Quadrupol Massenspektrometer (beide Shimadzu, Abb. 1, Seite 16).

Die LC-Konditionen wurden von einer bereits beschriebenen Methode übernommen. [4] Eine detaillierte Beschreibung der Methode kann mit Hilfe des QR-Codes am Ende des Artikels heruntergeladen werden. Im Fall der beschriebenen Messungen wurde eine Mastro C18 Chromatographie-Säule gewählt (150 x 2,1 mm, 3 µm, Shimadzu GLC Ltd.), die aufgrund ihres inneren Aufbaus (Abbildung 6) auch bei chelatbildenden Substanzen wie zum Beispiel Fumonisin noch exzellente Peakschärfen liefert.

Mit Hilfe der beschriebenen Methode konnten für alle analysierten Mykotoxine problemlos die in der EU-Verordnung geforderten Grenzwerte eingehalten werden. Abbildung 2 (Seite 17) zeigt exemplarisch die Kalibrationskurven der Aflatoxine B1 und B2 sowie G1 und G2 extrahiert aus gemahlenden Mandeln.

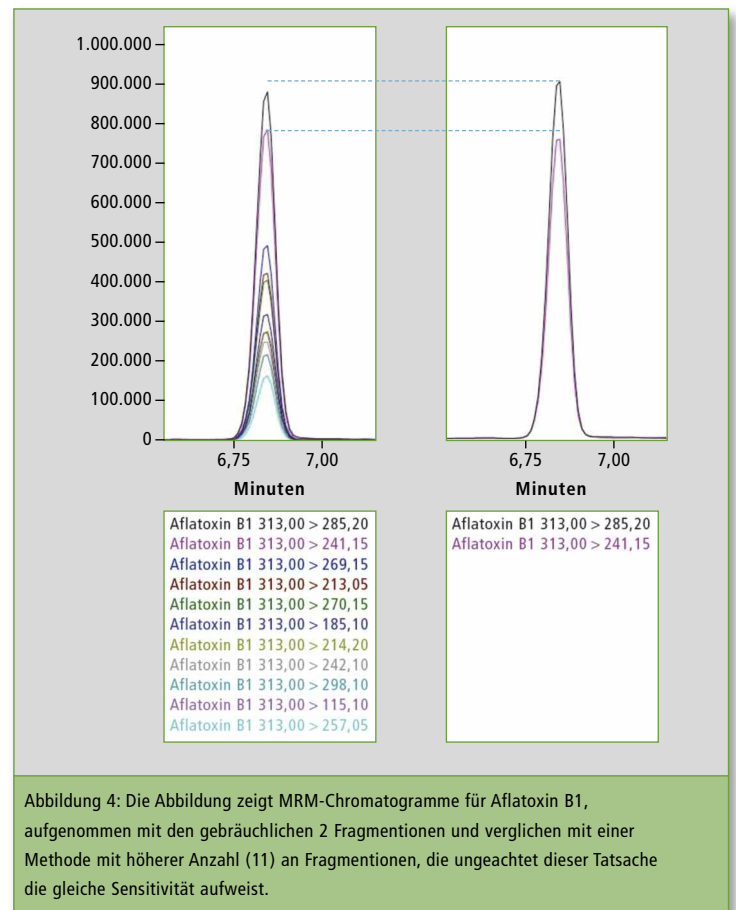


Abbildung 4: Die Abbildung zeigt MRM-Chromatogramme für Aflatoxin B1, aufgenommen mit den gebräuchlichen 2 Fragmentationen und verglichen mit einer Methode mit höherer Anzahl (11) an Fragmentationen, die ungeachtet dieser Tatsache die gleiche Sensitivität aufweist.

Analyse von Realproben

Es wurden 16 handelsübliche Proben verschiedener Backzutaten (Weizenmehl, Dinkelmehl, Haferflocken, Mandel, Haselnuss, Erdnuss, Walnuss, Cashew) aus verschiedenen örtlichen Geschäften auf die gängigen Mykotoxine untersucht. In einigen Proben konnten Mykotoxine nachgewiesen werden (Tabelle 1, Seite 17; Abbildung 3, Seite 18). In zwei Proben wurden sogar die von der Europäischen Union empfohlenen Höchstmengen für einzelne Mykotoxine überschritten.

Zusätzlich wurde für die Analytik der sogenannte „MRM Spektrum Mode“ angewendet. Hier werden nicht, wie sonst üblich, nur die Fragmente des Quantifiers und der Qualifier bestimmt, sondern eine höhere Nummer (typischerweise 6 - 10) an MRM-Fragmentationen. Bei Anwendung dieses MRM-Spektrum-Modus kombiniert man die konventionelle MRM-Quantifizierung mit der Erzeugung eines hochwertigen MRM-Produktienspektrums, das in der Routine zur Bibliothekssuche verwendet werden kann und somit Spezifität und Verifikation der Ergebnisse erhöht (Abbildungen 4 und 5).

Fazit

Für die Sicherheit der Lebensmittel ist zunächst der Hersteller verantwortlich, der durch Eigenkontrollen sicherstellen muss, dass von dem hergestellten Lebensmittel keine negativen Auswirkungen auf die Gesundheit des Verbrauchers ausgehen [3]. Um dies und die Einhaltung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten zu

gewährleisten, sind schnelle und empfindliche Multianalyt-Methoden für die Lebensmittelanalytik unumgänglich. Das beginnt bereits mit der Überwachung der Rohmaterialien und sollte dazu beitragen, dass kontaminierte Lebensmittel gar nicht erst in den Handel gelangen.

Dennoch konnten bei den untersuchten Proben einige, nahezu unvermeidbare Kontaminationen mit Mykotoxinen deutlich nachgewiesen werden. Dabei überschritten zwei Proben sogar die geltenden EU-Grenzwerte für einzelne Mykotoxine.

Trotz dieser Ausnahmen sollte sich niemand die Freude am Backen und Verzehr eigener Plätzchen nehmen lassen – bei übermäßigem Verzehr droht die gesundheitliche Gefährdung dann wohl eher durch Gewichtszunahme!

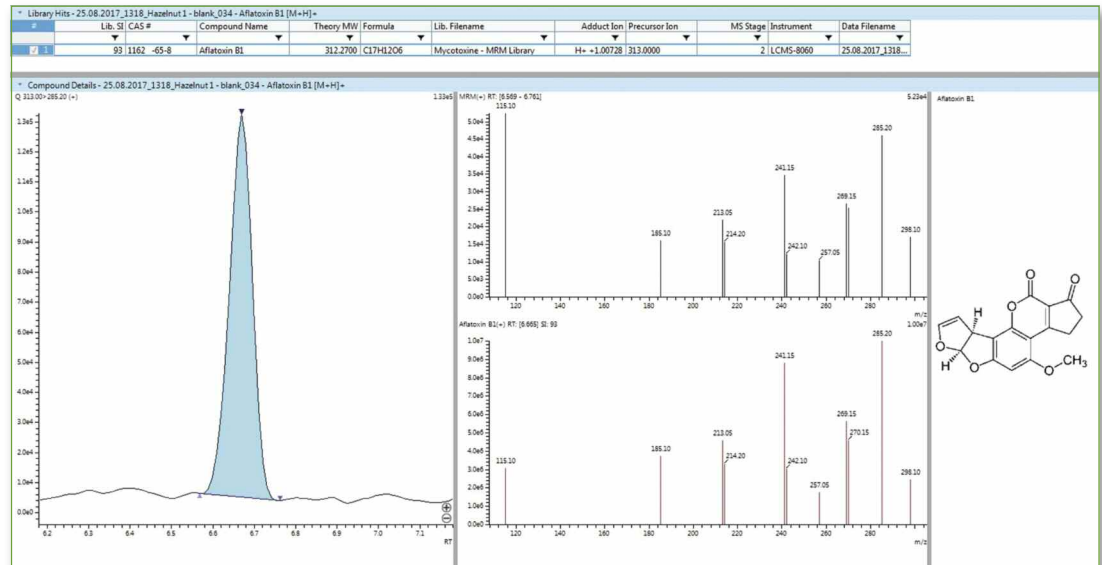


Abbildung 5: Ergebnis der Bibliothekssuche, dargestellt in der Software LabSolutions Insight Screening

Literatur

- [1] Berger, M., Rapp, M.: Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Mykotoxine – Giftige Stoffwechselprodukte von Schimmelpilzen, www.vis.bayern.de/ernaehrung/lebensmittelsicherheit/unerwünschte_stoffe/mykotoxine.htm
- [2] Weidenböner, M.: Lebensmittel-Mykologie, Behr's Verlag, Hamburg, 1999.
- [3] Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit, Schimmelpilzgifte in Lebensmitteln www.bvl.bund.de/DE/01_Lebensmittel/03_Verbraucher/09_InfektionenIntoxikationen/09_Schimmelpilzgifte/Im_Pilzgifte_Bakterien_node.html
- [4] Baker et al, Shimadzu Application News No. C 138, LAAN-A-LM-E109.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:

- Application note: Multi-Residue Analysis of 18 Regulated Mycotoxins by LC/MS/MS

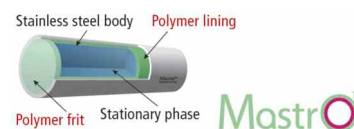


Abbildung 6: Struktur der Mastro™-Säule

Shimadzu News Magazine – The App

Applications, Products and Latest News from Shimadzu – Get it now!



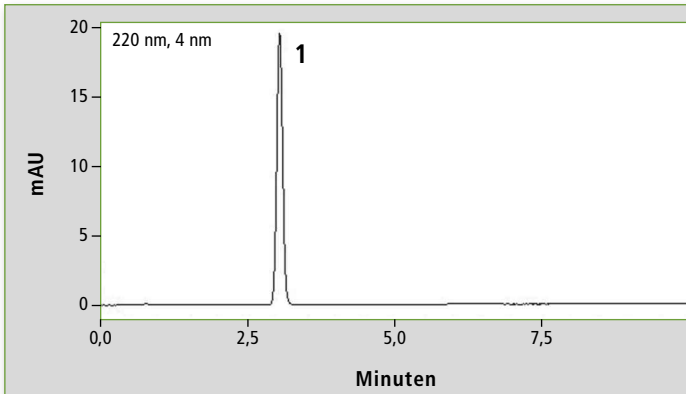


Abbildung 1a: Chromatogramm der originalen USP-Methode für Acetaminophen (0,01 mg/ml). Verwendete Säule: (a) Shim-pack GIS C18 (250 x 4,0 mm; 10 µm).

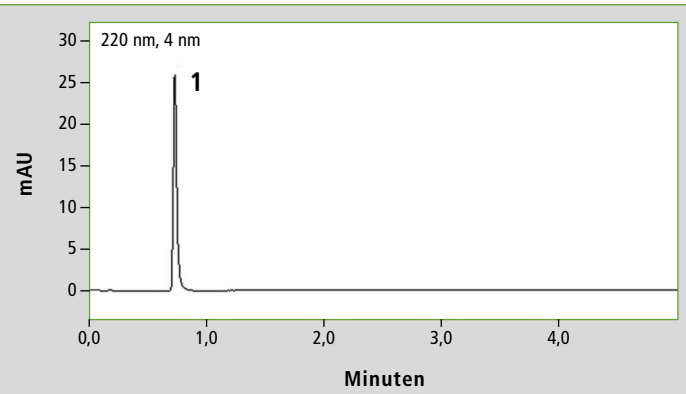


Abbildung 1b: Chromatogramm der beschleunigten USP-Methode für Acetaminophen (0,01 mg/ml). Verwendete Säule: (b) Shim-pack GIS C18 (100 x 3,0 mm; 3 µm).

Analysen mit hohem Durchsatz sind in den letzten Jahren sehr wichtig geworden, um die Produktivität und Effizienz in Laboratorien zu steigern. Gerade in der Pharmaindustrie sind schnelle Methoden von Vorteil, da diese Branche vielen Herausforderungen gegenübersteht: Sparmaßnahmen im europäischen und amerikanischen Gesundheitswesen begrenzen das Wachstumspotenzial und Ertragsmöglichkeiten. Die Entwicklung neuer Medikamente wird immer schwieriger und kostspieliger. [1, 2]

Aus diesen Gründen ist es wichtig, die Kosten auf anderem Wege zu senken, zum Beispiel dadurch, dass Analysen möglichst schnell und dabei auch günstiger durchgeführt werden. Das gelingt in der Flüssigchromatographie (LC) mit der Wahl einer kleineren Säule. Dies wurde an Beispielen aus dem

Klein, aber oho!

Kleine Säulen beschleunigen konventionelle USP-Methoden für Medikamente und sparen Lösemittel, Zeit und Geld

amtlichen Arzneibuch der Vereinigten Staaten von Amerika (United States Pharmacopeia, USP) untersucht. Das Arzneibuch beinhaltet allgemeine Kapitel zu Tests sowie einzelne Monographien. Eine Monographie besteht aus Tests zu Wirkstoffen und Spezifikationen.

Vor allem das Kapitel Chromatographie <621> [3] (USP 621) steht hier im Vordergrund, da das Arzneibuch

hier für die Nutzung kleinerer Säulendimensionen angepasst wurde und nun eine Veränderung der HPLC- und GC-Parameter zu einem gewissen Grade erlaubt, um schnellere Methoden zu ermöglichen.

Kapitel USP <621> fokussiert Chromatographie

Das Kapitel <621> der USP ist ein generelles Kapitel und beinhaltet Informationen zu allen Arten von Chromatographie, wie Gas-, Dünnschicht-, Papier- und Flüssig-

Chromatographie. Die Prinzipien der Chromatographie inklusive der Grundlagen sowie der verwendeten Geräte und Vorgehensweisen für die Analysen sind dort aufgeführt. Zudem sind alle wichtigen Parameter erläutert, die bei der Auswertung eines Chromatogramms wichtig sind.

Diese USP-Applikationsparameter wie beispielsweise die Retentionszeit, die Auflösung oder die Bodenzahl haben einen gewissen Soll-Wert, den Applikationen erfüllen müssen, die von der Originalmethode abgeändert wurden. In Tabelle 1 sind die Parameter gezeigt, welche – bezogen auf USP <621> – geändert werden dürfen. Zusätzlich sind die erlaubten Bereiche innerhalb dieser LC Parameter aufgelistet.

Im Folgenden wurden isokratische, konventionelle Analysen von verschiedenen Arzneimitteln unter Einhaltung der erlaubten Anpassungskriterien der USP modifi-

Partikelgröße (dp)	Konstantes L/dp Verhältnis oder theoretische Bodenzahl:
Säulenlänge (L)	-25 bis + 50 %
Säulen ID (dc)	Jeder beliebige, solange die lineare Geschwindigkeit konstant bleibt
Flussrate	Kombination* von dp und dc: ± 50 %
Injektionsvolumen	Kann variiert werden, muss aber übereinstimmen mit Präzision und Detektionslimits
Säulentemperatur	± 10 °C

Tabelle 1: Erlaubte Veränderungsbereiche der LC-Parameter in Übereinstimmung mit USP <621>
 $F_2 = F_1 \times [(dc_2^2 \times dp_1)/(dc_1^2 \times dp_2)] \cdot F_1$ und F_2 sind die Flussraten der originalen und der modifizierten Methode; dc_1 und dc_2 sind die entsprechenden Säulendurchmesser; dc_1 und dc_2 die Partikelgrößen.

Methode	Acetaminophen, Glibenclamid	Ibuprofen
Instrument	LC-2040C 3D (Shimadzu)	Nexera X2 (Shimadzu)
Detektion	PDA: D2 bei 190 - 350 nm	SPD-M30A bei 254 nm
Ofentemperatur	40 °C	40 °C

Tabelle 2: Verwendete Instrumente mit Parametern



Shimadzu Nexera X2 SPD-M30A

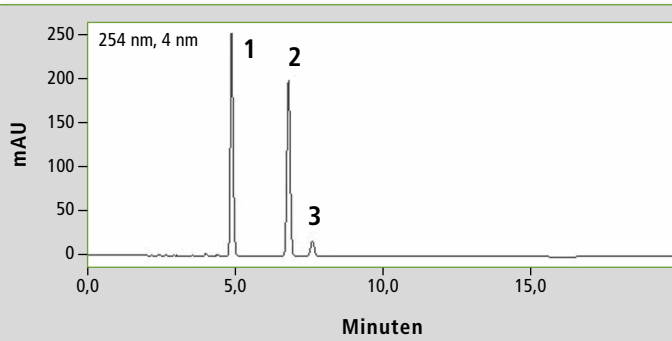


Abbildung 3a: Chromatogramm der originalen USP-Methode für Ibuprofen (Peak 1) (12 mg/ml). Verwendete Säule: (a) Shim-pack GIST C18 (250 x 4,6 mm; 5 µm). Peak 2: Valerophenon (0,35 mg/ml), Peak 3: 4 Isobutylacetophenon (0,012 mg/ml).

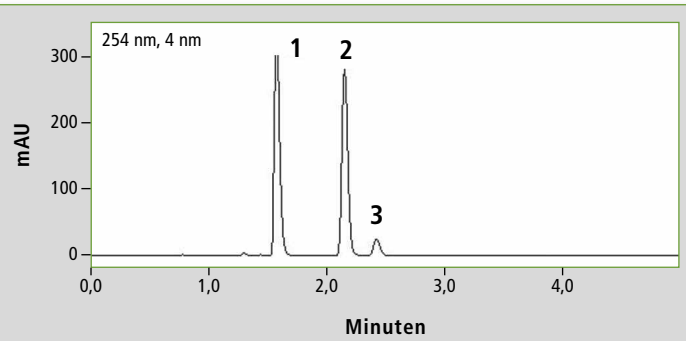


Abbildung 3b: Chromatogramm der beschleunigten USP-Methode für Ibuprofen (Peak 1) (12 mg/ml). Verwendete Säule: (b) Shim-pack GIST C18 (100 x 2,1 mm; 2 µm). Peak 2: Valerophenon (0,35 mg/ml), Peak 3: 4 Isobutylacetophenon (0,012 mg/ml).

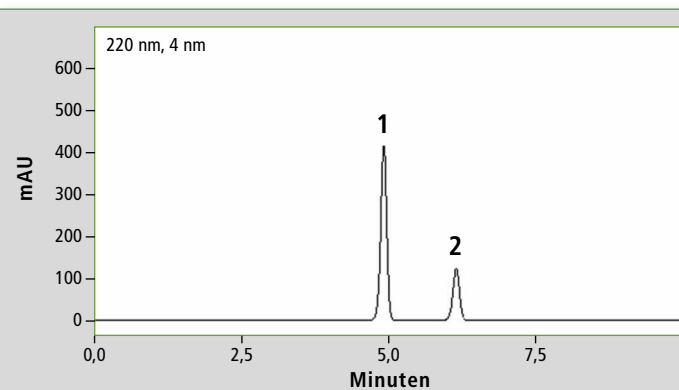


Abbildung 4a: Chromatogramm der originalen USP-Methode für Glibenclamid (Peak 1) (0,44 mg/ml). Verwendete Säule: (a) Shim-pack GIST C8 (250 x 4,6 mm; 5 µm). Peak 2: Progesteron (0,2 mg/ml).

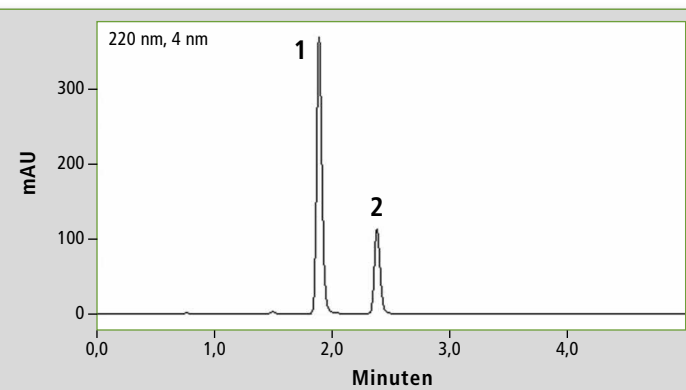


Abbildung 4b: Chromatogramm der beschleunigten USP Methode für Glibenclamid (Peak 1) (0,44 mg/ml). Verwendete Säule: (b) Shim-pack GIST C8 (100 x 2,1 mm; 2 µm). Peak 2: Progesteron (0,2 mg/ml).

ziert. Wie im Beispiel gezeigt, konnten dadurch die Untersuchungen von Acetaminophen, Ibuprofen und Glibenclamid in deutlich geringerer Zeit durchgeführt werden als in der Monographie beschrieben.

Vorteil kürzerer Analysezeiten – erzielt mit kleineren Dimensionen der Säulen

Durch das Ersetzen von Standard-säulen (250 oder 150 x 4,6 mm) gegen kleinere Äquivalente (zum Beispiel 100 x 3 mm) gepackt mit 2 - 3 µm anstatt 5 µm Partikelgrößen, treten verschiedene Effekte auf: Die Effizienz der Trennleistung steigt, resultierend in schärferen Signalen und die Analyten eluieren schneller von der Säule. Gleichzeitig muss die Flussrate verringert werden, da sonst der Druckanstieg im System zu hoch wäre. Dadurch erhält der Anwender zwei Verbesserungen: Eine wesentlich geringere Analysenzeit,

wodurch ein höherer Proben-durchsatz beziehungsweise eine höhere Auslastung des Geräts erzielt werden kann, und zudem noch einen niedrigeren Verbrauch an Lösemitteln. Mit der Ersparnis an Zeit und Laufmittel bietet das Herunterskalieren gleich zwei Vorteile, die wiederum den finanziellen Aufwand stark reduzieren.

Anpassung von USP-Methoden innerhalb der Richtlinien

Die erlaubten Bereiche, innerhalb derer die analytischen Bedingungen modifiziert werden dürfen, sind im USP Kapitel <621> Chromatographie zu finden. Durch das Ändern der analytischen Bedingungen innerhalb der Richtlinien kann die Analysenzeit signifikant verkürzt werden. Dabei wird die kürzere Säule mit dem kleineren inneren Durchmesser gewählt und die Flussrate entsprechend verringert, damit die lineare Geschwin-

digkeit beibehalten wird. Um die Auflösung der Trennung zu bewahren, dürfen die Länge und die Partikelgröße der Säule modifiziert werden, solange das Verhältnis der Säulenlänge (L) zur Partikelgröße (dp) in dem spezifizierten Bereich bleibt (erlaubter Bereich: - 25 % bis + 50 %).

Analysenzeit verkürzen

Es wurden verschiedene Arzneimittel untersucht, welche durch in der USP beschriebene LC-Methoden bestimmt werden können. Die originalen Methoden wurden durch die Verwendung kleinerer Säulen und geringerer Flussraten entsprechend der USP Richtlinien modifiziert. Alle Analysen wurden unter isokratischen Bedingungen gemessen.

Verwendete Arzneimittel

Um die Beschleunigung der konventionellen Methoden im Arznei-

buch zu demonstrieren, wurden drei verschiedene Analysen von Medikamenten gewählt:

- Acetaminophen, besser bekannt unter dem Namen Paracetamol, ist ein Medikament um Fieber und Schmerzen zu behandeln. [4]
- Ibuprofen ist ein nicht-steroidales Antirheumatikum. Der Arzneistoff wird verwendet, um Fieber, Entzündungen und Schmerzen zu lindern. [5]

		Acetaminophen	Ibuprofen	Glibenclamid
Säule	konventionell	Shim-pack GIS C18 (250 x 4 mm, 10 µm)	Shim-pack GIST C18 (250 x 4,6 mm, 5 µm)	Shim-pack GIST C8 (250 x 4,6 mm, 5 µm)
	beschleunigt	Shim-pack GIS C18 (100 x 3 mm, 3 µm)	Shim-pack GIST C18 (100 x 2,1 mm, 2 µm)	Shim-pack GIST C8 (100 x 2,1 mm, 2 µm)
Mobile Phase		A: Methanol; B: Wasser; A/B = 1/3 v/v	A: 1 % Chloressigsäure Lösung; pH 3,0; eingestellt mit Ammoniumhydroxid, B: Acetonitril; A/B = 40/60	A: 2,6 g Ammoniumdihydrogenphosphat in Wasser/Acetonitril = 450/550 ml
Flussrate	konventionell	1,5 ml/min	2,0 ml/min	2,0 ml/min
	beschleunigt	0,5 ml/min	0,6 ml/min	0,5 ml/min
Injektionsvolumina	konventionell	10 µl	5 µl	10 µl
	beschleunigt	5 µl	1 µl	1 µl
Konzentrationen		Acetaminophen (0,01 mg/ml)	Ibuprofen (12 mg/ml), Valerophenon (0,35 mg/ml), 4-Isobutylacetophenon (0,012 mg/ml)	Glibenclamid (0,44 mg/ml), Progesteron (0,2 mg/ml)

Tabelle 3: Verwendete Säulen und Methodenparameter

• Glibenclamid wirkt als Antidiabetikum. Der Wirkstoff gehört chemisch gesehen zu der Gruppe der Sulfonylharnstoffe. Die blutzuckersenkende Wirkung beruht auf der erhöhten Insulinfreisetzung aus der Bauchspeicheldrüse. [6]

Messparameter und Methoden

Die Messparameter sowie Methoden sind in Tabelle 2 (Seite 20) und 3 dargestellt.

Ergebnisse

Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 1 bis 4 sowie in Tabelle 4 gezeigt. Diese verdeutlichen die kürzeren Retentionszeiten. Die originalen USP-Methoden konnten durch das Verändern der Länge, des Innendurchmessers und der Partikelgröße der Säulen stark beschleunigt werden. Dabei wurde die Flussrate so angepasst, dass die lineare Geschwindigkeit immer konstant war. Die Retentionszeiten wurden dadurch verkürzt, so dass eine Zeitersparnis von 77 % im Falle von Acetaminophen, eine Ersparnis von 67 % bei der Analyse von Ibuprofen und von 61 % bei Glibenclamid erhalten wurden. Auch der Lösemittelverbrauch der drei Analysen wurde erheblich reduziert mit 67 % bei Acetaminophen, 70 % bei Ibuprofen und 75 % bei Glibenclamid.

Fazit

Die USP-Methoden von Acetaminophen, Ibuprofen und Glibenclamid konnten durch die Verwendung kleinerer Säulen wesentlich verbessert werden, verglichen mit

den originalen USP-Methoden. Alle Analysenzeiten sind kürzer und der Lösemittelverbrauch reduziert. Damit einhergehend werden die Kosten pro Analyse erheblich verringert. Der Methodentransfer von größeren Säulen hin zu kleinen Säulen bietet insgesamt sehr viele Vorteile, ganz nach dem Motto: Klein, aber oho!

Literatur

[1] Gehrke, von Haaren-Giebel, Branchenanalyse Pharmaindustrie, Study 305, Dezember 2015.
 [2] Dohrmann, M., Biecheler, P., Hosseini, M., Nyctelius, H. (2012): Pharma's fight for profit-ability. Lifecycle-based operating models.
 [3] United States Pharmacopeia (USP) 39, <621> Chromatography, August 2016.
 [4] Anderson B.J. Paracetamol (Acetaminophen): mechanisms of action. Paediatr Anaesth, 2008, 18(10), 915-21.
 [5] Melzer, M.: Ibuprofen: Wirkung, Anwendung, Nebenwirkungen. Apotheken Umschau 2017.
 [6] Davidson J.A., Scheen A.J., Howlett H.C. Tolerability profile of metformin/glibenclamide combination tablets (Glucovance): a new treatment for the management of type 2 diabetes mellitus. Drug Saf, 2004, 27(15), 1205-16.



Shimadzu LC-2040C 3D

	Acetaminophen	Ibuprofen	Glibenclamid
t _R Schnelle Methode	0,7 min	1,6 min	1,9 min
t _R Originale Methode	3,1 min	4,8 min	4,9 min
Zeitersparnis	77 %	67 %	61 %
Flussrate schnelle Methode	0,5 ml/min	0,6 ml/min	0,5 ml/min
Flussrate originale Methode	1,5 ml/min	2,0 ml/min	2,0 ml/min
Eluentersparnis	67 %	70 %	75 %

Tabelle 4: Retentionszeiten und Flussraten der beschleunigten sowie der originalen USP-Methoden mit kalkulierter Ersparnis



Alles Pappe, oder was?

Untersuchung von papierbasierenden Lebensmittelverpackungen mit infraroter ATR-Spektroskopie

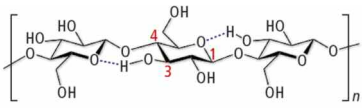


Abbildung 1: Cellobiose-Einheit aus dem Cellulose-Polymer

Wer sich mit Lebensmittelverpackungen beschäftigt, kommt um einen elementaren Bestandteil nicht herum: Cellulose. Sie ist ein Polymer, das sich aus β 1,4-glycosidisch verknüpften Glucose-Molekülen, den Cellobiose-Einheiten zusammensetzt (Abbildung 1) und aus Holz gewonnen wird – gemeinhin bekannt als Pappe oder Papier. Unter den Verpackungsmaterialien macht Papier den größten Anteil aus. Seine Vorteile liegen auf der Hand: es ist ein preiswerter, nachwachsender Rohstoff, der sich zu Altpapier recyceln lässt, das wiederum als Zusatz bei der Produktion neuer Verpackungen zum Einsatz kommt.



IRTracer-100

Lebensmittelpapier wird zum Beispiel als Einschlagpapier mit direktem Kontakt zum Lebensmittel angeboten, etwa frischem Aufschnitt oder als Hartpapier für Getränke in Form von Trinkbechern. Der Einsatzbereich lässt sich mit folgenden Stichworten umfassen: Bio-, To-Go-, und Fastfood-Verpackungen. Die Anwendung von Papierverpackungen als „Karton“ ist auf die Umverpackungen oder trockene Lebensmittel wie zum Beispiel Mehl, Zucker aber auch Nudeln oder Müsli beschränkt.

Papier alleine stellt keine Barriere gegen Feuchtigkeit und Sauerstoff dar. Pappen, die in den Lebensmittelverpackungen verwendet werden, sind aus mehreren Schichten aufgebaut. Dabei sind der außen liegenden Schicht Füllstoff wie Kaolin ($\text{SiO}_2/\text{Al}_2\text{O}_3$) und Talk (ein magnesium-haltiges Schichtsilikat) sowie Titandioxid als Weißpigment beigemischt. Diese sorgen für glatte, weiße Oberflächen, die für Aufdrucke besser geeignet sind, als die raue unbehandelte Pappschicht. [1]

ATR bestimmt Hauptkomponenten der Verpackungsoberflächen

Im Folgenden wird die ATR-FTIR-Spektroskopie genutzt, um auf schnellem Weg die Hauptkomponenten der Verpackungsoberflächen zu bestimmen. Das Kürzel ATR steht für „abgeschwächte Totalreflexion“ und beschreibt das verwendete Messprinzip: IR-Strahlung gelangt durch ein optisches Element zur Probe, zum Beispiel einen Diamantkristall. An der Grenzschicht zwischen Probe und ATR-Kristall wird der Großteil der einfallenden Strahlung reflektiert, während ein kleiner Teil in die Probe eindringt und mit ihr wechselwirkt. Die dadurch hervorgerufene Abschwächung der Totalreflexion wird gemessen.

Hierbei ist die Eindringtiefe der IR-Strahlung vom Einfallswinkel abhängig und beträgt im vorhandenen Versuchsaufbau ca. 2 μm . Mehrschichtensysteme lassen sich auf diese Weise jedoch nicht ausreichend untersuchen, da die Schichten oft nur wenige Mikrometer dick sind und nicht voneinander getrennt werden können. Die IR-Mikroskopie ermöglicht jedoch die Anfertigung von ATR-Messungen der Schnittkante eines Mehrschichtensystems.

Die hier gezeigten Messungen wurden auf einem IRTracer-100

mit Diamant-ATR (Quest) durchgeführt. Im Infrarot-Spektrum der äußeren Oberfläche einer Pappschachtel für Schokoriegel können mehrere Komponenten identifiziert werden (Abbildung 2a).

Eine erste Datenbanksuche identifiziert ein Copolymer bestehend aus Styrol- und Allylalkohol-Monomeren. Diese sind Bestandteil des bunten Aufdrucks. Durch Bildung eines Differenzspektrums zwischen dem Spektrum der Probe und dem der identifizierten Komponente konnten außerdem noch Kaolin und Calciumcarbonat identifiziert werden (Abbildung 2b bis 2d).

Um Papierverpackungen gegen Feuchtigkeit zu stabilisieren, werden sie mit PE-Schichten (Poly-

ethylen) überzogen, wodurch sich das Anwendungsgebiet für Papierverpackungen erweitert. Beispiele hierfür sind zum Beispiel Milchtüten und Kaffeebecher. Zusätzlich verleiht der PE-Film der Verpackung eine erhöhte Reißfestigkeit. Da PE jedoch durchlässig für CO_2 und O_2 ist, beschränkt sich der Einsatz auf frische Lebensmittel, die innerhalb von kurzer Zeit verzehrt werden. [3]

Verpackung als Werbe- und Imageträger

Der Einsatz von Papier in Verpackungen kann genutzt werden, um dessen Image zu gestalten, aber auch das Image des Lebensmittels zu unterstützen. ▶

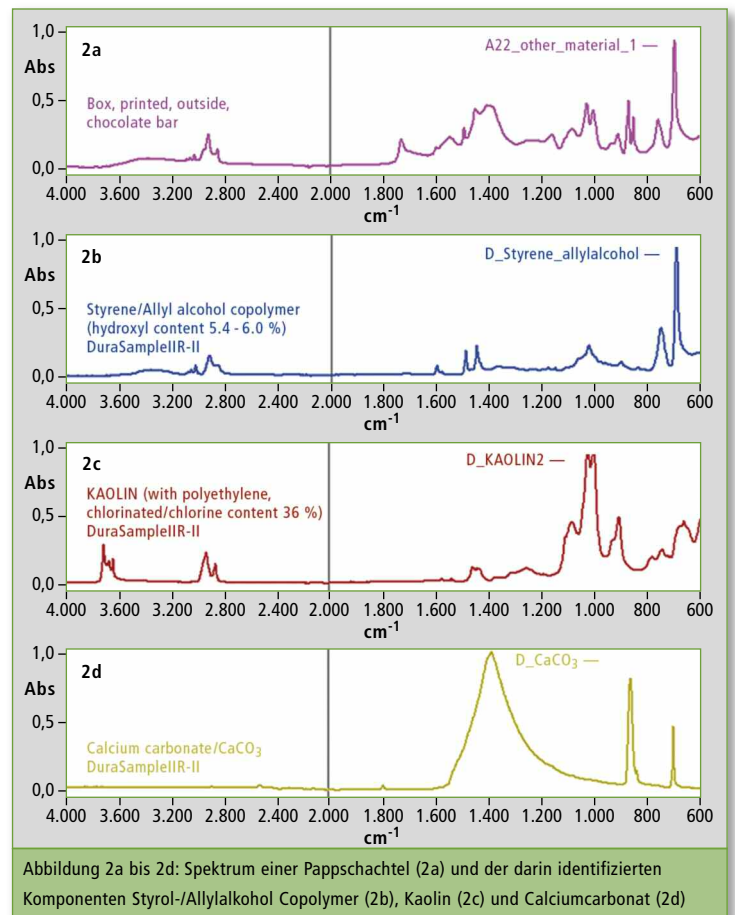


Abbildung 2a bis 2d: Spektrum einer Pappschachtel (2a) und der darin identifizierten Komponenten Styrol-/Allylalkohol Copolymer (2b), Kaolin (2c) und Calciumcarbonat (2d)

So kann durch die Verwendung von Holz aus „verantwortungsvollen Quellen“ zum Beispiel das FSC-Siegel erhalten werden, welches das Produkt als besonders umweltfreundlich auszeichnet. [4]

Papier findet sich auch häufig als Verpackungsbestandteil qualitativ hochwertiger Produkte wieder. Wer ehrlich ist, muss zugeben, dass die wenigsten unserer Kaufentscheidungen rational begründet sind; die neurologische Forschung zeigt sogar, dass alle unsere Entscheidungen emotional getrieben sind. [5] Neben Werbetexten haben auch visuelle und haptische Effekte einen großen Einfluss auf das Kaufverhalten, die zu komplex zusammengesetzten Verpackungssystemen führen.



Abbildung 3: Papiertüte für Hustenbonbons, deren Bestandteile mit FTIR untersucht wurden. [6]

FTIR analysiert mehrere Schichten der Verpackung

Beim Betrachten einer Tüte für Em-eukal Hustenbonbons (Abbildung 3) fiel zum Beispiel auf, dass sowohl der gelbe Bonbon als auch der „Em-eukal“-Schriftzug auf der Verpackung mit einer glatten, glänzenden Oberfläche ausgestattet sind.

Eine FTIR-Analyse zeigte, dass es sich hierbei um einen PP-Film handelt (Polypropylen). Darüber hinaus ist die Tüte von innen mit einem Ethylen-Acryl-Copolymerisat beschichtet, das als Haftvermittler oder zum Versiegeln für Verpackungsfolien verwendet wird. Zusätzlich wird auf der

bedruckten äußeren Oberfläche der Tüte noch Nitrocellulose, ein typischer Bestandteil von Druckfarben identifiziert. Diese einfache „Papiertüte“ setzt sich somit neben der Cellulose aus drei weiteren Materialien zusammen, was dem Konsumenten den Eindruck eines hochwertigen Produkts vermittelt. [3]

IR-Mikroskopie analysiert Bestandteile

Auch die IR-Mikroskopie ermöglicht die Analyse der Bestandteile von Verpackungen. Hierfür wird das Shimadzu Infrarot-Mikroskop AIM-9000 mit einem germanium-basierenden ATR-Objektiv eingesetzt, wobei das Germanium-Kristall als optisches Element verwendet wird.

Die Em-eukal-Verpackung wird entlang ihrer Schichten aufgetrennt, wobei neben der lila Oberfläche Fasern und eine Kunststoffolie zum Vorschein kommen. Mit dem ATR-Kristall werden Spektren von 100 µm² großen Ausschnitten der entsprechenden Schichten aufgenommen. Das untersuchte Objekt sowie zwei der gemessenen Spektren sind in Abbildung 4 dargestellt.

Zusammenfassung

Papier ist ein beliebtes Material für die Verpackung von Lebensmitteln. Viele verschiedene Materialien werden in Kombination mit Papier eingesetzt, von denen jedes schnell und zerstörungsfrei mit der FTIR-Spektroskopie identifiziert werden kann. Wie demonstriert wurde, bestehen die Papierverpackungen zum Teil aus mehreren Schichten, eine Kombination aus Polymerschichten, um das Papier herum. Um die Infrastruktur eines solchen Mehrschichtensystems zu erfassen, empfiehlt sich die Infrarot-Mikroskopie, mit der Schichten in µm-Dicke analysiert werden können.

Literatur

- [1] www.papierunion.de/starterkit/servlet/segment/papierunion_index/Service/PapierPraxis_BlueBooks/252/Papierherstellung.html
- [2] www.verbraucherzentrale.de/papierkarton-pappe

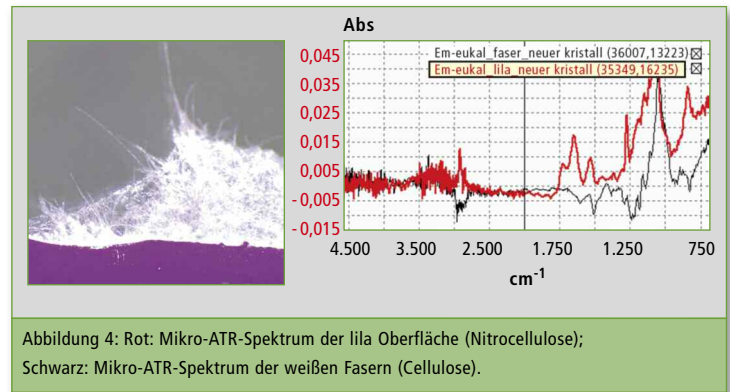


Abbildung 4: Rot: Mikro-ATR-Spektrum der lila Oberfläche (Nitrocellulose); Schwarz: Mikro-ATR-Spektrum der weißen Fasern (Cellulose).

- [3] Dr. H. Saechtling: Kunststoff Taschenbuch. 31. Ausgabe, Carl Hanser Verlag, München 2013.
- [4] www.fsc-deutschland.de/de-de
- [5] Christian Scheier: Wie Werbung wirkt: Erkenntnisse des Neuromarketing, 2. Ausgabe, Haufe Lexware, 2012
- [6] <http://www.soldan.com/presse/bilddaten/>



Zeitsparende Methode für die Analyse von Bier

Voll automatisierte Derivatisierung und Quantifizierung von Glyphosat und AMPA mit einem Standard-LC-MS/MS-System



Ein Standard-LC-MS/MS-System vereinfacht die Glyphosat- und AMPA-Analyse in Bier, ohne dass ein zusätzliches Gerät benötigt wird, wie zum Beispiel ein Liquid-Handling-System zur Probenvorbereitung. Durch Staffelung von Aufbereitung und LC-MS/MS-Analyse ist die Methode sehr zeiteffizient. Die Kalibrierkurven zeigen eine ausgezeichnete Präzision und

Genauigkeit, und sogar in einer komplexen Matrix wie Bier lassen sich Glyphosat und AMPA mit einer Nachweisgrenze von 5 ng/ml oder weniger bestimmen – was unterhalb des erlaubten EU-Rückstandslimits (maximum residue levels = MRL) liegt. 60 % aller hier überprüften Bierproben enthielten Spuren von Glyphosat, allerdings lagen alle weit unter dem MRL.

Einleitung

Glyphosat gehört zu den Pestiziden, die weltweit am weitesten verbreitet sind. Trotz seiner Zulassung durch Aufsichtsbehörden überall in der Welt bestehen Bedenken hinsichtlich seiner Schädlichkeit für Menschen und Umwelt. [1, 2] Daher ist eine strikte Kontrolle von Glyphosat und seiner Metaboliten Aminomethyl-

phosphonsäure (AMPA) in Nahrungsmitteln und der Umwelt unerlässlich.

2016, das Jahr des 500. Jubiläums des Deutschen Reinheitsgebots für Bier, erlangte Glyphosat zweifelhaften Ruhm, da es in zahlreichen deutschen Bieren nachgewiesen wurde [3]. ♦

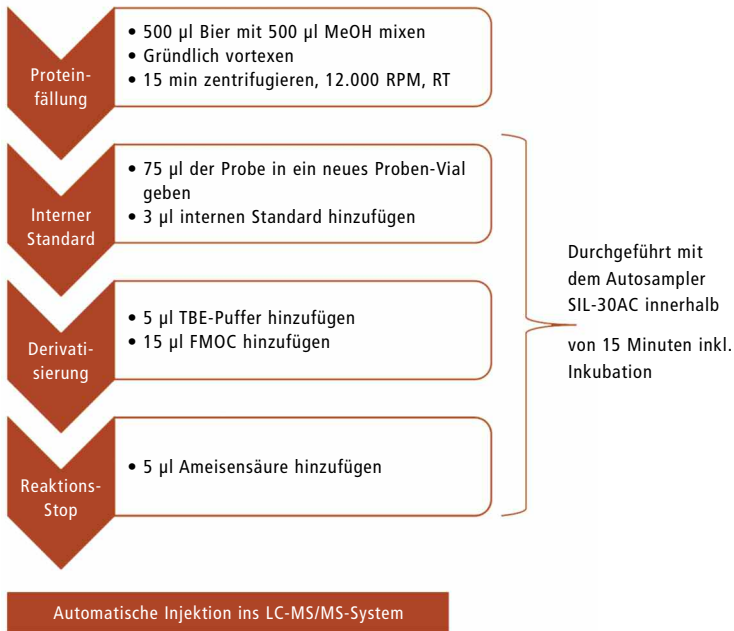


Abbildung 1: Arbeitsablauf der Probenaufbereitung. Die Zugabe des internen Standards ebenso wie alle verbleibenden Derivatisierungsschritte werden vom Autosampler erledigt.

Während für Trinkwasser und einige Lebensmittel festgelegte Rückstandshöchstgehalte (MRL) existieren, gibt es für Bier keinen zugeordneten MRL. [4] In diesem Fall gelten die MRL der einzelnen Bestandteile, das heißt, die MRL für die zur Malzproduktion verwendete Gerste (20 mg/kg) oder für Hopfen (0,1 mg/kg). Diese Werte liegen deutlich über dem MRL für Trinkwasser (0,1 µg/l).

Voll automatisierte Derivatisierung gefolgt von einer LC-MS/MS-Analyse

Die Quantifizierung von Glyphosat und AMPA stellt eine große analytische Herausforderung dar. Beide Moleküle sind stark polar, was keine ausreichende Retention auf Umkehrphasensäulen zulässt. Des Weiteren gibt es auf Grund ihres geringen Molekulargewichts für diese Moleküle nicht viele für die LC-MS-Analyse ausreichende Übergänge. Zudem ist Bier eine komplexe Matrix, die eine gute Chromatographie erfordert.

Um der geringen Retention von Glyphosat auf Umkehrphasensäulen entgegenzuwirken, gibt es eine etablierte Methode, die einen Derivatisierungsschritt mit 9-Fluorenylmethylchloroformat

(FMOc = Fluorenylmethoxycarbonyl) [4] gefolgt von der LC-MS-Analyse einschließt.

Eine FMOc-Derivatisierung führt zu einer verminderten Polarität des Analyten, wodurch eine Chromatographie auf einer Standard-Umkehrphasensäule ermöglicht wird. Die Derivatisierung erfordert einige Pipettierschritte. Sie lassen sich manuell durchführen, was mühsam und fehleranfällig ist, oder automatisch, was meist zusätzliche Hardware verlangt.

Dieser Beitrag beschreibt eine voll automatisierte Derivatisierung mit nachfolgender LC-MS/MS-Analyse von Bierproben. Der apparative Aufbau benötigt keinerlei zusätzliche Hardware zur Proben-

Zeit (Min)	% B	Flussrate	Ventilposition
0,00	5	0,4	zum Abfall
2,50			zum MS
5,00			zum Abfall
7,00	50	0,4	
7,01	95	0,6	
12,00	95	0,6	
12,01	5	0,6	
14,00	5	0,6	
14,01	5	0,4	
15,00	5	0,4	

Tabelle 1: UHPLC-Methode

aufbereitung, nutzt aber die integrierte Vorbehandlungsfunktion des Autosamplers.

Experiment

Probenvorbereitung

Eine Bierprobe von 500 µl wurde mit 500 µl Methanol versetzt, um Proteine auszufällen. Nach dem Vortexen wurden die Proben zentrifugiert (15 Minuten bei 12.000 g) und in den Autosampler gestellt, der alle weiteren Schritte zur Probenaufarbeitung voll automatisch durchführte.

UHPLC-Methode

Gerät: Nexera UHPLC, Shimadzu
 Säule: Gemini 5 µm C18, 150 x 2 mm
 Mobile Phase:
 A: 2 mm NH₄HCO₃, pH 9,5
 B: Acetonitril
 Injektions-Vol.: 50 µl
 Säulentemperatur: 35 °C

MS-Bedingungen

Gerät: LCMS-8060, Shimadzu
 Ionisation: pos/neg ESI
 Nebulizing gas: 3 l/min
 Heating gas: 15 l/min
 Drying gas: 5 l/min

Interface-Temperatur: 325 °C
 DL-Temperatur: 150 °C
 Heizblock-Temperatur: 400 °C
 CID-Gas: 270 kPa
 Interface-Spannung: 4 kV/-3 kV

Ergebnisse und Diskussion

Methodenentwicklung für die automatisierte Derivatisierung

Das stark polare Glyphosat ist, ebenso wie sein Abbauprodukt AMPA, in Wasser sehr gut löslich, jedoch unlöslich in organischen Lösungsmitteln wie Methanol, Isopropanol oder Acetonitril. Im Gegensatz dazu ist das unpolare FMOc in Wasser nicht löslich, dafür löst es sich aber leicht in organischen Lösungsmitteln. Das Zusammenbringen des Analyten und des Derivatisierungsreagenzes unter Bedingungen, die für beide Löslichkeit zulässt, ist für die gesamte Analyse von entscheidender Bedeutung.

Eine Möglichkeit, dies zu erreichen, besteht in einer Inkubation bei erhöhter Temperatur. Diese steigert die Löslichkeit von FMOc in Wasser und wird daher oft zur Analyse eingesetzt. [5] Für

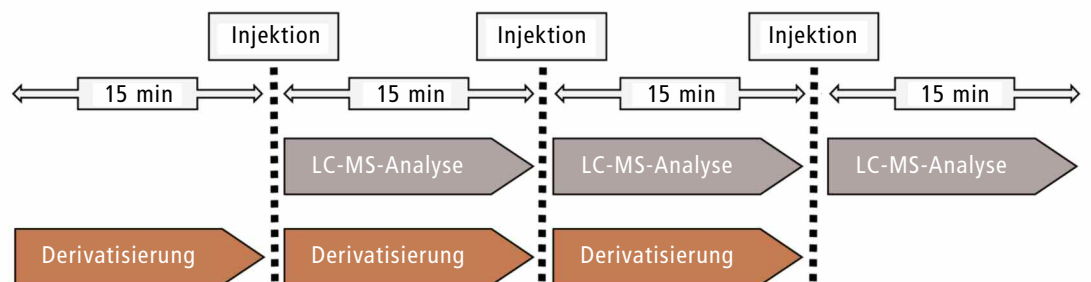


Abbildung 2: Verschachtelung der Probenaufbereitung und der Analyse durch einen SIL-30AC. Die Gesamtdauer pro Probe ist auf 15 Minuten reduziert.

ein automatisiertes Vorgehen erfordert dies allerdings einen speziellen Geräteaufbau, der eine beheizte Inkubation ermöglicht.

Wie hier dargestellt, konnte jedoch auch eine gute Löslichkeit für FMOC, Glyphosat und AMPA in einer Lösung mit 50 % Methanol (Daten nicht dargestellt) erreicht werden, ohne ein Aufheizen der Probe im Verlauf der Inkubation. Dies ermöglichte eine voll automatisierte Probenaufarbeitung durch Anwendung der Pretreatment-Funktion des Autosamplers. Der einzige manuelle Schritt bestand darin 500 µl Bier mit 500 µl Methanol zu mischen, dem Vortexen der Probe und der Zentrifugation.

Der Überstand wurde in den Autosampler gegeben, der alle nachfolgend anfallenden Schritte (Zugabe von FMOC und internem Standard, Beenden der Reaktion) automatisch durchführte (Abbildung 1). Die Probe wurde nach Derivatisierung direkt in das LC-MS/MS injiziert und analysiert. Die benötigte Zeit für alle Derivatisierungsschritte betrug nur 15 Minuten.

Die nachfolgende Chromatographie dauerte ebenfalls 15 Minuten. Auf Grund der sich überschneidenden Probenvorbereitungsfunktionalität wurde die nächste Probe schon aufbereitet während

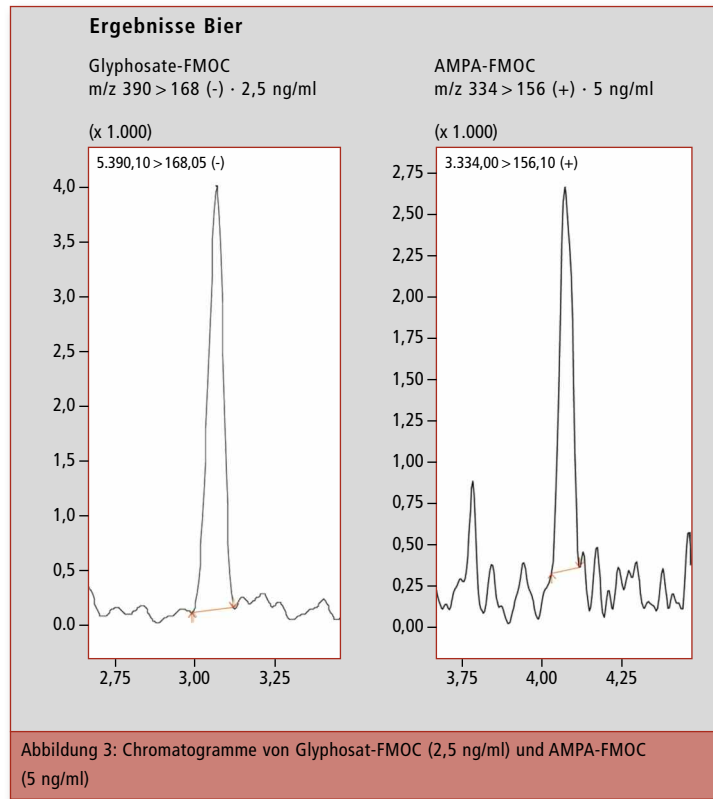


Abbildung 3: Chromatogramme von Glyphosat-FMOC (2,5 ng/ml) und AMPA-FMOC (5 ng/ml)

die vorherige Probe bereits im LC-MS/MS analysiert wurde. Dadurch wurde der Durchsatz maximiert (Abbildung 2). Mit Ausnahme der ersten und letzten Probe lässt sich die Gesamtzeit pro Probe für die automatisierte Aufbereitung und die Analyse so auf 15 Minuten reduzieren.

Abbildung 3 zeigt typische Chromatogramme für die Quantifizie-

rungsgrenze (LOQ) des Glyphosat-FMOC (2,5 ng/ml) und AMPA-FMOC (5 ng/ml) und ihre Kalibrationskurven (Glyphosat 2,5 – 100 ng/ml; AMPA 5 – 100 ng/ml). Die Methode lässt eine ausgezeichnete Linearität für Glyphosat-FMOC ($R^2 = 0,9986$) und AMPA-FMOC ($R^2 = 0,9995$) erkennen. Durch Analyse von QC-Proben mit drei verschiedenen Konzentrationen (3 ng/ml,

15 ng/ml und 75 ng/ml) wurde nachgewiesen, dass die Genauigkeit der Methode sehr hoch ist. Die relative Standardabweichung lag unter 10 % für alle QC außer dem kleinsten QC für AMPA-FMOC, der extrapoliert wurde, da er unterhalb des LOQ lag (Tabelle 1).

Quantitative Analyse von 40 Bierproben

Nach der erfolgreichen Entwicklung einer voll automatisierten Methode wurden insgesamt 40 frei verkäufliche Bierproben analysiert: 21 Bierproben gebraut nach Pilsner Art, drei Proben Bio-Bier, zehn Proben von anderen Biersorten und sechs alkoholfreie Bierproben oder nicht-alkoholische Biermix-Getränke.

Alle Proben wurden doppelt in zwei aufeinander folgenden Läufen analysiert. Während Glyphosat in 60 % aller Proben nachgewiesen wurde, lag sein Metabolit AMPA in allen Proben unterhalb des LOQ (Tabelle 2).

IMPRESSUM

Shimadzu NEWS, Kundenzeitschrift der Shimadzu Europa GmbH, Duisburg

Herausgeber
Shimadzu Europa GmbH
Albert-Hahn-Str. 6-10 · D-47269 Duisburg
Telefon: +49 (0)203 76 87-0
Telefax: +49 (0)203 76 66 25
shimadzu@shimadzu.eu
www.shimadzu.eu

Redaktion
Uta Steeger
Telefon: +49 (0)203 76 87-410
Ralf Weber, Maximilian Schulze

Gestaltung und Produktion
m/e brand communication GmbH GWA
Düsseldorf

Auflage
Deutsch: 6.050 · Englisch: 3.920

© Copyright
Shimadzu Europa GmbH, Duisburg,
Dezember 2017. Nachdruck, auch auszugsweise, nur mit Genehmigung der Redaktion gestattet.

Windows ist Warenzeichen der Microsoft Corporation. ©2017 Apple Inc. Alle Rechte vorbehalten. Apple, das Apple Logo, Mac und Mac OS sind Warenzeichen von Apple.

Batch	Glyphosate-FMOC						AMPA-FMOC					
	QC 3 ng/ml		QC 15 ng/ml		QC 75 ng/ml		QC 3 ng/ml		QC 15 ng/ml		QC 75 ng/ml	
	Konz.	Genau.%	Konz.	Genau.%	Konz.	Genau.%	Konz.	Genau.%	Konz.	Genau.%	Konz.	Genau.%
A	2,60	86,5	14,89	99,3	74,14	98,9	4,76	158,5	15,66	104,4	80,80	107,7
A	2,87	95,7	14,96	99,7	81,22	108,3	2,71	90,3	16,16	107,7	85,65	114,2
A	3,41	113,5	15,14	100,9	77,94	103,9	3,15	105,0	15,99	106,6	81,38	108,5
B	2,81	93,7	16,00	106,7	79,18	105,6	4,11	137,0	15,33	102,2	78,40	104,5
B	3,20	106,7	16,08	107,2	76,19	101,6	3,49	116,2	15,20	101,3	82,23	109,6
B	3,46	115,3	15,42	102,8	83,74	111,6	3,02	100,8	15,66	104,4	84,15	112,2
C	2,82	93,9	14,94	99,6	67,88	90,5	3,48	115,9	15,48	103,2	83,97	112,0
C	2,73	91,1	15,67	104,5	76,89	102,5	3,25	108,3	16,55	110,3	79,72	106,3
C	3,27	109,0	15,87	105,8	84,87	113,2	3,38	112,6	16,87	112,5	82,65	110,2
D	3,19	106,2	16,42	109,5	82,82	110,4	2,73	90,9	16,85	112,3	75,46	100,6
D	3,33	110,9	16,00	106,7	85,29	113,7	3,31	110,4	14,35	95,7	72,06	96,1
D	3,23	107,6	17,14	114,3	84,74	113,0	3,55	118,3	15,50	103,3	75,97	101,3
Mittel.	3,08		15,71		79,57		3,41		15,80		80,20	
SD	0,2915		0,6816		5,2735		0,5676		0,7306		4,0615	
RSD (%)	9,5		4,3		6,6		16,6		4,6		5,1	
							Extrapoliert					

Tabelle 2: QC-Probenergebnisse

Es gibt keine Korrelation zwischen den Biersorten (Pils, alkoholfrei und andere wie Weizenbier) und der Glyphosat-Detektion, da es Glyphosat enthaltende Proben bei allen Biersorten gab. Nur die drei geprüften Bio-Biere waren komplett frei von Glyphosat. Aber auch für die positiv getesteten Biere lag die Menge weit unterhalb des MRL, so dass keines der Biere ein Gesundheitsrisiko darstellt – zumindest hinsichtlich des Glyphosat-Gehalts.



	Glyphosat-FMOC					AMPA-FMOC	
	Konz. ng/ml	Konz. ng/ml	Mittelwert	SD	% RSD	Konz. ng/ml	Konz. ng/ml
Pils							
Probe 1	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 2	8,37	8,95	8,7	0,4087	4,7	<LOQ	<LOQ
Probe 3	20,85	20,28	20,6	0,4038	2,0	<LOQ	<LOQ
Probe 4	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 5	6,78	6,57	6,7	0,1549	2,3	<LOQ	<LOQ
Probe 6	11,34	12,08	11,7	0,5240	4,5	<LOQ	<LOQ
Probe 7	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 8	8,61	9,41	9,0	0,5706	6,3	<LOQ	<LOQ
Probe 9	4,74	4,63	4,7	0,0834	1,8	<LOQ	<LOQ
Probe 10	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 11	10,81	12,03	11,4	0,8627	7,6	<LOQ	<LOQ
Probe 12	13,95	14,65	14,3	0,4943	3,5	<LOQ	<LOQ
Probe 13	33,06	27,61	30,3	3,8509	12,7	<LOQ	<LOQ
Probe 14	20,29	18,68	19,5	1,1377	5,8	<LOQ	<LOQ
Probe 15	25,28	22,09	23,7	2,2578	9,5	<LOQ	<LOQ
Probe 16	3,23	2,93	3,1	0,2171	7,1	<LOQ	<LOQ
Probe 17	3,66	3,48	3,6	0,1308	3,7	<LOQ	<LOQ
Probe 18	5,25	5,65	5,4	0,2807	5,2	<LOQ	<LOQ
Probe 19	2,67	2,93	2,8	0,1881	6,7	<LOQ	<LOQ
Probe 20	3,87	4,39	4,1	0,3698	9,0	<LOQ	<LOQ
Probe 21	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Bio-Bier							
Probe 22	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 23	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 24	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Andere							
Probe 25	2,79	3,26	3,0	0,3323	11,0	<LOQ	<LOQ
Probe 26	4,61	4,15	4,4	0,3260	7,4	<LOQ	<LOQ
Probe 27	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 28	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 29	2,52	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 30	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 31	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 32	8,06	7,27	7,7	0,5621	7,3	<LOQ	<LOQ
Probe 33	11,19	11,57	11,4	0,2737	2,4	<LOQ	<LOQ
Probe 34	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Alkoholfrei							
Probe 35	4,75	4,47	4,6	0,1952	4,2	<LOQ	<LOQ
Probe 36	16,05	15,71	15,9	0,2454	1,5	<LOQ	<LOQ
Probe 37	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 38	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 39	<LOQ	<LOQ				<LOQ	<LOQ
Probe 40	2,50	2,85	2,7	0,2482	9,3	<LOQ	<LOQ

Tabelle 3: Analyse der Bierproben

Schlussfolgerung

Die dargestellte Methode derivatisiert Glyphosat und AMPA mit FMOC voll automatisch innerhalb von 15 Minuten. Die einzig notwendige, manuelle Aufarbeitung besteht in einer Proteinfällung. Zusätzliche Hardware wird nicht benötigt, da alle Vorbehandlungsschritte durch den Autosampler in der Standard-LC-Konfiguration durchgeführt werden.

Die Methode ist robust und zuverlässig, auch für Proben in einer komplexen Matrix wie Bier, was sie für Hochdurchsatzanalysen geeignet macht. Zudem wurde der Durchsatz durch Einsatz der sich überschneidenden Probenvorbereitungsfunktionalität verdoppelt. Diese ermöglicht eine Probenaufarbeitung, während die vorangehende Probe analysiert wird.

Literatur

[1] Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance glyphosate, EFSA Journal, 13 (11):4302, 2015.
 [2] www.dw.com/en/independent-scientists-warn-over-monsanto-herbicide/a-18886833
 [3] www.umweltinstitut.org/fileadmin/Mediapool/Downloads/02_Mitmach-Aktionen/11_Rettet_das_Reinheitsgebot/Glyphosat_Untersuchung_Umweltinstitut_2016.pdf
 [4] ec.europa.eu/food/plant/pesticides/eu-pesticides-database/public/?event=homepage&language=EN
 [5] www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:21458:ed-1:v1:en

Für Sie gelesen in Chromatography Today 11-12/17



Neue Lösungen für komplexe Probleme

Globaler Innovationsgipfel – Weltweit führende Forschung trifft Spitzentechnologie



Das Innovation Center in den Vereinigten Staaten

Mit Wissenschaftlern und der akademischen Welt zusammenzuarbeiten, um neue Spitzentechnologien zu entwickeln, hat bei Shimadzu eine lange und gute Tradition. Dies hat das Unternehmen auf seinem Weg unterstützt, ein weltweit führender Hersteller von instrumenteller Analytik und Medizintechnik zu werden. Viele der Neuentwicklungen

für Wissenschaft und Wirtschaft sind heute Standard in gut ausgestatteten Laboren und unterstreichen den Unternehmensanspruch „Excellence in Science.“

Um die Technologien und die führende Position zu erweitern, intensiviert Shimadzu seine bestehenden wissenschaftlichen Kooperationen und etabliert neue Part-

nerschaften. Ein Schritt in diese Richtung ist der Aufbau der Shimadzu Innovation Center, die wissenschaftliches und technologisches Knowhow zusammenführen und somit einen noch kundenorientierteren Service ermöglichen. Die Innovation Center gibt es bereits in den USA, China und Singapur. 2017 wurde das European Innovation Center in Duis-

burg eröffnet. Seine europaweite, dezentrale Struktur erlaubt, Wissenschaftlern und Märkten nahe zu sein, und unterstreicht das Engagement Shimadzu's, mit wissenschaftlichen Instituten zusammenzuarbeiten. ♦



Das Innovation Center in der Laborwelt von Shimadzu Europa

Dadurch werden Technologie-Entwicklungen beschleunigt, die den Bedürfnissen der Partner entgegenkommen.

„Wir haben viele gute Wissenschaftler und Ingenieure. Die Zusammenarbeit mit Wissenschaft und Forschung erlaubt uns stetig, herausragende Technologien, Produkte und Services anzubieten“, sagte Shuzo Maruyama, Geschäftsführer Analyse- und Messgeräte bei Shimadzu.

Weltweit hat Shimadzu viele Millionen Dollar in Universitätsprojekte investiert, etwa das Shimadzu „Center for Advanced Analytical Chemistry“ (SCAAC) der Universität Texas in Arlington (USA), das Shimadzu Analytical Innovation Research Laboratory der Osaka-Universität in Japan und das HMSTrust Analytical Laboratory der Monash-Universität in Australien. Mit Systemen von Shimadzu bieten diese frei zugänglichen, gemeinnützigen

Labore nicht nur modernste Forschung, sondern auch eine hochqualifizierte Ausbildung für Studierende und zukünftige Wissenschaftler.

Initiativen wie diese erhellen, warum sich nahezu 40 % der 11.000 Shimadzu-Beschäftigten und fast 50 % der Kunden in Übersee befinden.

Globaler Innovationsgipfel zu Gesundheit, Lebensmittelsicherheit und Umweltschutz

Unabhängig von den zuvor beschriebenen Entwicklungen hat Shimadzu den globalen Innovationsgipfel (Shimadzu Global Innovation Summit) ins Leben gerufen, eine multilaterale Initiative im Konferenzformat mit Meinungsführern (Key Opinion Leaders), Wissenschaftlern, Ingenieuren und Führungskräften von Shimadzu sowie zahlreichen Vordenkern der jüngeren Generation (Emerging Thought Leaders).



Dr. McIntosh in ihrem Labor des Monash-Instituts für pharmazeutische Wissenschaften

Im Juli 2017 gaben in der Shimadzu-Unternehmenszentrale im japanischen Kyoto elf der Meinungsführer Einblicke in ihre Arbeit aus Medizin-, Umwelt- und Lebensmittelforschung.

Eines der Ziele des Gipfels verfolgte die Zusammenarbeit unter Forschern zu fördern, die vergleichbare Techniken einsetzen, aber selten die Gelegenheit zu wissenschaftlichem Austausch haben. Die vorgestellten Forschungsthemen betrafen in erster Linie globale Fragen zur Gesundheit, Lebensmittelsicherheit und Bewahrung der Umwelt. Sie verdeutlichten die Wichtigkeit analytischer Technologien zur Lösung dieser Probleme.

Die meisten der etwa 100 Teilnehmer aus 16 Ländern kamen von Universitäten oder nationalen Forschungseinrichtungen. Die Zahl der Teilnehmenden wurde bewusst limitiert, um den Austausch zu erleichtern.

Gemäß der akademischen Tradition gab es Vorträge der KOLs und Poster-Präsentationen von Forschungsergebnissen der ETL. Verschiedene öffentliche Podiumsdiskussionen förderten die Interaktion zwischen Meinungsführern und jungen Vordenkern.

„Die Konferenzen, an denen ich teilnehme, befassen sich zumeist mit Arzneimittelforschung, aber kaum mit Ernährungswissenschaft. Den Vortrag, den ich mir über extrahierbare und austretende Substanzen in Nahrungsmittelverpackungen auf dem Gipfel anhörte, beschrieb die gleiche Thematik, der wir bei pharmazeutischen Produkten und Verpackungen begegnen. Nach dem Vortrag tauschte ich Visitenkarten, um zukünftige Zusammenarbeiten zu diskutieren“, sagte Michelle McIntosh, außerordentliche Professorin an der Monash-Universität in Melbourne, Australien.

Hoffnung für Wöchnerinnen: neue Behandlung der Wochenbettblutung

Der Vortrag von Dr. McIntosh ist beispielhaft für die Hoffnungen von Shimadzu, mit seiner Technologie Lösungen für medizinische Herausforderungen weltweit zu finden.

Jedes Jahr sterben 100.000 Frauen an Wochenbettblutung (postpartale Blutung), die meisten von ihnen in Entwicklungsländern. Das Mittel der Wahl, um die Wochenbettblutung zu verhindern und zu behandeln, ist Oxytocin, ein Medikament für nur wenige Cent. Trotzdem ist der Zugang zu Oxytocin nicht flächendeckend, da die Lieferung und Lagerung des Medikaments, ein Peptid, unter kontrollierter Temperatur stattfinden muss. Außerdem ist zur Injektion qualifiziertes medizinisches Personal erforderlich. Für ärmere Länder geht man davon aus, dass fast 90 % der Mütter der untersten Einkommensgruppen zuhause entbinden und keinen Zugriff auf intaktes Oxytocin oder entsprechend ausgebildete Fachleute haben.

Dr. McIntosh hat als eine Alternative an einer Aerosol-Darreichung geforscht. Obwohl eine systemische Medikamentengabe über die

Lungen nach wie vor eine Herausforderung ist, kann die Medikamentenaufnahme und der Wirkungseintritt dem Injektionsverfahren entsprechen. Michelle McIntosh untersucht daher Oxytocin in Form eines Trockenpulvers, was die Notwendigkeit einer gekühlten Lagerung beseitigt und die Verabreichung des Medikaments vereinfacht. Der große Teil dieser Arbeit umfasst das Verständnis des Oxytocin-Abbaus, wofür Dr. McIntosh eine Reihe von Shimadzu-Systemen einsetzt. Diese Untersuchungen schließen



Dr. Schug (rechts) von der Universität Texas in Arlington

ein, wie flüssige und feste Oxytocin-Varianten auf hohe Temperaturen reagieren – wie sie in denjenigen Gebieten vorherrschen, die eine Aerosol-Variante am meisten benötigen. Auf Basis dieser Forschung führen sie und ihr Team nun eine klinische Testphase 2 durch.

Neue Krebstherapie, bekannt als Nah-Infrarot-Photoimmuntherapie (NIR-PIT)

Dr. Hisataka Kobayashi, Studienleiter am Krebsforschungszentrum des staatlichen Instituts für Gesundheit in den USA, hat eine neue Krebstherapie entwickelt, die als Nah-Infrarot-Photoimmuntherapie (NIR-PIT) bekannt ist. NIR-PIT nutzt Konjugate aus

Fluoreszenzfarbstoffen und Antikörpern, um Krebszellen zu attackieren. Diese Konjugate werden den Patienten injiziert und binden sich an die Oberfläche von Krebszellen. Ein NIR-Stimulus bewirkt eine Reaktion im Farbstoff, die den Antikörper aktiviert. Diese Aktivierung macht die Zellmembran durchlässig und löst den Zelltod aus. NIR-PIT erzielt eine außerordentlich hohe Spezifität für Krebszellen. Sie ist für die klinische Testphase 2 vorgesehen und wird bald in die Zulassungsphase übertreten.

Indikatorsubstanz. Der Patient wird mit NIR-Licht bestrahlt, damit das ICG fluoresziert und damit der Blutfluss und die Lymphgefäße in Echtzeit für den Arzt leuchten, der den chirurgischen Eingriff unter Umgebungslicht durchführt. Diese Methode wird derzeit in einem Experimentalfeld in japanischen Kliniken bei Patienten eingesetzt.

Neue Diagnosen für Prostatakrebs

Dr. Alex J. Rai, außerordentlicher Professor am Institut für Ärzte und Chirurgen an der Columbia-Universität (Vereinigte Staaten), sieht diese und andere Vorträge als einen wichtigen Anstoß für seine Forschung an neuen Diagnosemöglichkeiten für Prostatakrebs.

Eine große Herausforderung bei Krebs liegt in der Heterogenität des Krankheitsverlaufs, was Analysewerkzeuge erfordert, die Biomarker für die molekulare Charakterisierung erkennen lassen. Diese Biomarker lassen sich verwenden, um die Diagnose zu unterstützen, die therapeutische Reaktion vorherzusagen und den Patienten zu überwachen. Soweit Ärzte derzeit wissen, gibt es kein einzelnes Gen, das für die Mehrzahl der Prostatakarzinome verantwortlich ist. Daher ist es von großem Interesse, Biomarker-Signaturen zu identifizieren, die einen Einblick in den Erkrankungsprozess ermöglichen. So soll verstanden werden, wie genetische Mutationen in funktionsuntüchtige Proteine übersetzt werden, woraus anomale Signale in Tumorzellen resultieren.

Prostatakrebs ist die zweithäufigste Ursache für Krebstod. Dr. Rai sucht nach Bestandteilen von Exosomen für Biomarker, die Patienten für eine bessere Diagnose und Behandlungspläne klassifizieren können. Diese Forschung nutzt Shimadzu-Technologien, profitiert aber auch vom „lab4you“ Programm für Hochschulabsolventen, die in Shimadzu-Zentren schnellen Zugang zu den Geräten für ihre Experimente erhalten. ♦

Shimadzu Analysen Systeme unterstützen Dr. Kobayashi in seinen Forschungsarbeiten durch die Bereitstellung von Daten für die photosynthetische Reaktion, welche die Antikörper freisetzt. Der Antikörper muss von einer hydrophilen in eine hydrophobe Umgebung wechseln, um den Zelltod einzuleiten. Die Massenspektrometrie von Shimadzu wird eingesetzt, um den chemischen Reaktionsmechanismus zu verstehen, um die Lichtintensität zu optimieren und damit den zytotoxischen Effekt zu maximieren.

Auch die jüngste Shimadzu-NIR-Technik wurde auf dem Innovationsgipfel vorgestellt. Bei diesem System wird den Patienten Indocyaningrün (ICG) injiziert, eine

Umweltschutz: mögliche Auswirkung von hydraulischem Fracking

Auch Meinungsführer zu Umweltthematiken stellten ihre Forschung vor, etwa Kevin A. Schug,



Dr. Santos während ihrer Präsentation

Shimadzu-Ehrenprofessor für analytische Chemie an der Universität von Texas in Arlington. Sein Labor untersucht die mögliche Auswirkung von hydraulischem Aufbrechen oder „Fracking“ auf die Umwelt im Staat Texas. Das SCAAC hat es dem Schug-Labor ermöglicht, einige

der größten Untersuchungen hinsichtlich einer Grundwasserkontamination durchzuführen, wodurch wertvolle Information gewonnen werden, um die optimalen Verfahren für diese immer häufiger genutzte Energieextraktionsmethode festzuschreiben.

Während Kevin Schugs technischer Vortrag sich auf Fortschritte in der Analyse intakter Proteine konzentrierte, stellte seine Mitarbeiterin Dr. Inês C. Santos ein prämiertes Poster vor über die Veränderungen im Mikrobiom von Grundwasserbrunnen in der Nähe von Fracking-Standorten.

Beurteilung einer komplexen Lebensmittelfunktion

Prof. Eiichiro Fukusaki von der Osaka-Universität hielt ebenfalls einen technischen Vortrag, über den metabolischen Fingerabdruck und seine Anwendung für die Lebensmittelbeurteilung.

„Es ist sehr schwierig, eine Lebensmittelfunktion mit Hilfe des herkömmlichen Reduktionismus zu beurteilen. Die metabolische Technik ist sehr nützlich bei der Bewertung einer komplexen Lebensmittelfunktion, insbesondere des Geschmacks“, erklärte er.

Durch Erzeugung einer metabolischen Matrix mit Hilfe massenspektroskopischer Daten zeigte



Prof. Erich Leitner (rechts), Technische Universität Graz (Österreich)

Dr. Fukusaki, dass ein metabolischer Fingerabdruck die Bewertung verschiedener Lebensmittelmerkmale durch professionelle Geschmackstester vorhersagen kann, wie Aroma, Geschmack und Aussehen. Diese Fingerabdrücke lassen sich von Unternehmen dazu nutzen, den Geschmack für unterschiedliche Märkte zu modifizieren.

Die Zukunft

Der globale Innovationsgipfel zeigt, dass die kontinuierliche Entwicklung wegweisender Technologien von der Zusammenarbeit mit führenden Wissenschaftlern der analytischen Forschung aus unterschiedlichen Bereichen profitiert. Der Gipfel entwickelte sich aus Partnerschaften, die Shimadzu durch seine zahlreichen Labore und Zentren überall in der Welt geformt hat. Sie sind die Basis für Kooperation und

ein Vertrauensverhältnis, das auf andere Weise nicht hätte erreicht werden können.

„In den letzten Jahren hat Shimadzu vor allem in meinem Arbeitsgebiet begonnen, stärker zu kommunizieren. Zusätzlich besteht die Möglichkeit die vorhandene Infrastruktur im Demolabor für Messungen zu nutzen. Diese Rahmenbedingungen beschleunigen die Dinge stark“ meint Erich Leitner, Professor für Lebensmittelchemie an der Technischen Universität Graz und KOL, der über seine Arbeiten im Bereich von Lebensmittelaromen und unerwünschten Rückständen in Lebensmitteln vortrug.

Weitere Informationen zu diesem Beitrag:

- www.shimadzu.com/an/gis/



Shimadzu live

Car Symposium	JEC	Laborama
Bochum, Deutschland 08.02. - 09.02.2018 www.car-symposium.de	Paris, Frankreich 06.03. - 08.03.2018 www.jeccomposites.com	Brüssel, Belgien 15.03. - 16.03.2018 www.expo.laborama.be
analytica	ISCC	
München, Deutschland 10.04. - 13.04.2018 www.analytica.de	Riva del Garda, Italien 13.05. - 18.05.2018 www.iscc42.chromaleont.it	

@ShimadzuEurope

NEWS – gedruckt und digital

Printversion: Wenn Sie die Shimadzu News regelmäßig erhalten wollen, senden Sie uns einfach Ihre Post-Adresse an folgende E-Mail: shimadzu-news@shimadzu.eu

Auch als App: Die Shimadzu NEWS gibt es auch als WebApp unter www.shimadzu-webapp.eu

Registrieren Sie sich für unseren Newsletter: www.shimadzu.eu/newsletter